



Synthèse de pinces à fluorures dérivées d'acides aminés pour l'imagerie TEP

Julie Bernard

► To cite this version:

Julie Bernard. Synthèse de pinces à fluorures dérivées d'acides aminés pour l'imagerie TEP. Chimie organique. Université de Bourgogne, 2014. Français. NNT : 2014DIJOS059 . tel-01236196

HAL Id: tel-01236196

<https://theses.hal.science/tel-01236196>

Submitted on 1 Dec 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THE UNIVERSITY OF HULL

UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

U.F.R. Sciences et Techniques

THÈSE

Sous Label «Doctorat européen»

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Bourgogne

Disciplines: Chimie organique – Radiochimie

Par

Julie Bernard

Soutenue le 28 novembre 2014

Synthèse de pinces à fluorures dérivées d'acides aminés pour l'imagerie TEP

Directeur de Thèse : Pr Sylvain Jugé

Co-encadrante de Thèse : Dr Raluca Malacea-Kabbara

Dr. Florine Cavelier	Directeur de Recherche CNRS, Université Montpellier II, France	Rapporteur
Pr. Simon Ametamey	Institute for Pharmaceutical Sciences of ETH Zurich, Suisse	Rapporteur
Pr. Stephen J. Archibald	Director of Positron Emission Tomography Research Centre, Hull, Angleterre	Examineur
Pr. Franck Denat	Directeur de l'ICMUB, Université de Bourgogne, Dijon, France	Président
Pr. Sylvain Jugé	Directeur de l'équipe Stéréochim, Université de Bourgogne, Dijon, France	Directeur de Thèse
Dr. Raluca Malacea-Kabbara	Chargé de recherche CNRS, Université de Bourgogne, Dijon, France	Co-encadrante

Remerciements

Ce travail a été principalement réalisé à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (ICMUB), unité mixte de recherche entre l'Université de Bourgogne, et le Centre National de la Recherche Scientifique, au sein de l'équipe StéréochIM.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude au Professeur Sylvain Jugé pour avoir pris la direction de ma thèse pendant ces trois années. Je le remercie pour avoir su me faire partager sa passion de la science et surtout pour la confiance et la liberté qu'il a su m'accorder durant toutes ces années passées au laboratoire.

Je remercie très sincèrement Madame Florine Cavelier, Directeur de recherche CNRS à l'Université de Montpellier ainsi que Monsieur Simon Ametamey, Professeur à l'Institut des Sciences Pharmaceutique de Zurich pour avoir accepté la charge de rapporteurs de cette thèse. J'adresse également mes remerciements à Monsieur F. Denat, Professeur à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne, pour l'honneur qu'il me fait en présidant ce jury.

Ce travail de thèse ne saurait exister sans la participation et le soutien d'un collaborateur avec qui j'ai pu travailler. J'adresse donc mes plus sincères remerciements à Monsieur Stephen J. Archibald, Directeur du Positron Emission Tomography Research Centre à Hull pour m'avoir accueilli dans son unité et de m'avoir initié aux joies de la radiochimie. Je le remercie également d'avoir accepté de participer à ce jury.

Que Madame Raluca Kabbara-Malacea, Chargé de Recherche CNRS soit assurée de ma très grande reconnaissance pour avoir accepté de co-encadrer cette thèse, ainsi que pour l'implication, la disponibilité et le soutien qu'elle m'a apporté durant ces trois années. Outre le côté scientifique, j'ai apprécié tous les moments partagés... mariage, naissance de Hugo, les soirées, les sorties «course à pied», la sortie vosgienne qui nous ont permis de passer au delà de la relation encadrant-thésard.

Je remercie également mon «collègue de bureau», Dr. Jérôme Bayardon, pour sa très grande disponibilité, pour avoir partagé son savoir-faire, ainsi que pour toutes nos séances détente-sportives que ce soit au bad (merci pour les volants en pleine figure) ou durant les sessions footing au parc de la Colombière.

J'adresse un pensée particulière au Dr. Ewen Bodio pour m'avoir soutenu et motivé durant ces années au laboratoire, et sans oublier pour ses «nombreux» jeux de mots hors pair. A tous les moments partagés en dehors du laboratoire qui nous ont permis de créer cette belle amitié : nos fameuses soirées apéro, crêpes (normal pour un Breton), aux batailles d'oreillers matinales, aux gâteaux d'anniversaire un brin particulier et j'en passe, tellement il y aurait de choses à raconter. Un grand merci à toi et à Iza bien sûr.

Que mes anciens «Profs de fac» Monsieur Pierre Legendre et Monsieur Michel Picquet soit assurée de ma reconnaissance. Au travers de cette thèse, j'ai pu découvrir des personnes avec beaucoup d'humour, avec qui je ne me suis plus sentie comme la «petite» étudiante de master.

J'adresse mes sincères remerciements à Madame Marie-Joëlle Eymin, pour les nombreuses synthèses d'acides aminés qu'elle a réalisés et qui m'ont permis de me consacrer à 100% à la conception de mes pinces.

Pour leur aide et leurs conseils concernant la spectrométrie de masse ou la RMN, je tiens à remercier Marie-José Penouilh et Fanny Picquet. Je remercie également Marcel Soustelle pour toutes les analyses élémentaires.

De manière plus globale, mais non moins chaleureuse, je n'oublie pas d'associer mes remerciements à tous les membres du laboratoire (Pauline, Pawel, Oldrich, Astrid, Mathieu, Hassib, Milène, Antonin, Emmanuelle....), à ceux de l'équipe OMBC³ (Margot, Quentin, Pierre-Emmanuel, Emmanuel, Florian, Benoît, Semra, Vincent....) et ceux de l'équipe EMMD (Emilie, Pierre, Charles, Guillaume...).

Un grand merci à tous les membres de l'équipe de Stephen J. Archibald, et plus particulièrement à Hayley, Alicja, Shubhanchi, Boonuma, Hugo, Richard, Goncalo et Ben, pour l'accueil, l'aide, la découverte des coutumes anglaises (English Breakfast, Cider...), et les sorties organisées qui m'ont permis d'apprivoiser ce coin de l'Angleterre.

Je tiens à remercier mes amis du Master CMPP, Marie Laure et Lydie sans qui mon intégration sur Dijon aurait été plus dure... Merci aussi aux non chimistes, mais non moins amis qui m'ont permis de m'aérer l'esprit quand j'en avais besoin : Karina (ma colombienne favorite), Fanny, Laura (ma covoitureuse préférée), Christelle, la bande de Mont et aux badistes (Mathieu, Didier...).

Je n'oublie pas de remercier chaleureusement ma belle-famille, ma famille et plus particulièrement mes frères et mes parents pour leur soutien et leurs encouragements qui m'ont permis d'avancer sans perdre de vue les choses essentielles de la vie. Je finirai, par un remerciement sincère à toi, Vivien, pour avoir su faire preuve de compréhension, de patience et pour ton énorme soutien tout au long de ces années. Pour tout ce que tu m'apportes, merci!!!

Un grand merci à tous ceux que j'ai oubliés et qui ont contribué de près ou de loin au déroulement de cette thèse.

Abbreviations

AcOH	Acide acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
ACN	Acétonitrile
All	Allyle
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ArBF ₃	Aryltrifluoroborate
AS (SA)	Activité spécifique
Bn	Benzyle
Boc ₂ O	Dicarbonate de di- <i>tert</i> -butyle
BODIPY	Bore-dipyrométhène
<i>n</i> -BuLi	Butyllithium
CAN	Nitrate d'ammonium cérique
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DIBAL-H	Hydruure de (diisobutyl)aluminium
DIPEA	<i>N,N'</i> -diisopropyléthylamine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Dppe	1,2(bisphénylphosphino)éthane
EDC	1-éthyl-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
Ee	Excès énantiomérique
EtOH	Ethanol
HBTU	O ⁻ (Benzotriazol-1-yl) - <i>N,N,N',N'</i> - tetraméthyluronium hexafluoro phosphate
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
GBq	Gigabecquerel
Imd	Imidazole
<i>i</i> -Pr	Propyle
<i>i</i> -PrOBPin	2-isopropoxy-4,4,5,5-tetraméthyl-1,3,2-dioxaborolane
<i>i</i> -PrOH	Propan-2-ol
MBq	Mégabecquerel
mCi	Millicurie
Me	Méthyle
MeOH	Méthanol
Mes	Mésityle
NaAc	Acétate de sodium
Ns	2- ou 4-nitrobenzène sulfonyl
PBAA	Phosphonium boronate amino acide
PBS	Tampon phosphate salin (Phosphate Buffered Saline)
Pin	Pinacol
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RCC (RCY)	Rendement radiochimique
Ta (RT)	Température ambiante
TBAT	Tetrabutylammonium triphénylsilyldifluorosilicate

TBS	Tampon tris salin (Tris buffered saline)
TEP (PET)	Tomographie par Emission de Positons
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tetrahydrofurane
TPP	Triphénylphosphonium
DMTr	Diméthoxytrityl

Ac ₃ -[¹⁸ F]-FGlc-PTS	3,4,5-Tri-O-acetyl-2-[¹⁸ F]-fluoro-2-deoxy-D-glucopyranosyl-1-phenylthiosulfonate
[¹⁸ F]-AcOF	[¹⁸ F]-acetylhypofluorite
[¹⁸ F]-FAMB	2-amino-4-[¹⁸ F]-fluoro-2-methylbutanoic acid
[¹⁸ F]-FBA	[¹⁸ F]-fluorobenzaldehyde
[¹⁸ F]-FBnTP	[¹⁸ F]-fluorobenzyl triphenylphosphonium
[¹⁸ F]-FBzA	<i>N</i> -[2-(diethylamino)-ethyl]-4-[¹⁸ F]-fluorobenzamide
[¹⁸ F]-F3	(2-(2-[¹⁸ F]-fluoroethoxy)ethyl)triphenyl)phosphonium salt
[¹⁸ F]-FCH	[¹⁸ F]-fluorocholine
[¹⁸ F]-FDG	[¹⁸ F]-2-désoxy-2-fluoro-D-glucose
[¹⁸ F]-FDOPA	L-6-[¹⁸ F]-fluoro-2,3,4-dihydrophénylalanine
[¹⁸ F]-FEA	2-[¹⁸ F]-fluoroethylazide
[¹⁸ F]-FET	O-(2-[¹⁸ F]-fluoroethyl)-L-tyrosine
[¹⁸ F]-FETMP	(2-(2-[¹⁸ F]-fluoroethoxy)ethyl)tris(4-methoxyphenyl)phosphonium salt
[¹⁸ F]-FLT	3'-désoxy-3'-[¹⁸ F]-fluorothymidine
[¹⁸ F]-FPyMe	1-[3-(2-[¹⁸ F]-fluoropyridin-3-yloxy)propyl]pyrrole-2,5-dione
[¹⁸ F]-SFB	<i>N</i> -succinimidyl-4-[¹⁸ F]-fluorobenzoate
[¹⁸ F]-2-Glc-N ₃	2-deoxy-2-[¹⁸ F]-fluoro-β-glucopyranosyl azide

Sommaire

Introduction Générale.....	11
Chapitre 1. Étude bibliographique.....	14
I. La Tomographie par Émission de Positons (TEP).....	15
I-1. Principe	15
I-2. Les radioisotopes émetteurs β^+ (ou e^+).....	16
II. Les principaux radiopharmaceutiques fluorés utilisés en TEP.....	20
II-1. Le $[^{18}\text{F}]$ -2-fluoro-2-désoxy-D-glucose ($[^{18}\text{F}]$ -FDG)	21
II-2. La L-6- $[^{18}\text{F}]$ -fluoro-3,4-dihydroxyphénylalanine ($[^{18}\text{F}]$ -FDOPA).....	23
II-3. La $[^{18}\text{F}]$ -fluorocholine ($[^{18}\text{F}]$ -FCH).....	25
II-4. La $[^{18}\text{F}]$ 3'-désoxy-3'-fluorothymidine ($[^{18}\text{F}]$ -FLT)	26
II-5. La O-(2- $[^{18}\text{F}]$ fluoroéthyl)-L-tyrosine ($[^{18}\text{F}]$ -FET)	27
III. Marquage d'acides aminés et de peptides par le fluor-18	29
III-1. Marquage par création de liaisons C- ^{18}F	29
III-2. Marquage non conventionnel <i>via</i> des hétéroatomes.....	40
IV. Sels de phosphonium appliqués à l'imagerie TEP	49
IV-1. Application comme marqueurs des dysfonctionnements mitochondriaux.....	49
IV-2. Application comme entité cationique dans des pinces à fluorures.....	51
IV-3. Application des sels de phosphoniums pour la synthèse d'acides aminés boronés en vue d'un développement en imagerie	54
V. Problématique et Objectif.....	55
Chapitre 2. Synthèse des sels de Phosphoniums Boronés dérivés d'Acides Aminés (PBAA).....	57
I. Préparation de la phosphine <i>ortho</i> -boronée	60
II. Stratégie de synthèse des sels de phosphonium boronés dérivés d'acides aminés (PBAA)	61
II-1. Première approche : synthèse par quaternisation directe d'un iodo acide aminé.....	62
II-2. Seconde approche : synthèse de sel de phosphonium boronés fonctionnalisés (groupement prosthétique)	72
II-3. Études des modifications structurales au niveau des atomes de phosphore et de bore..	78
III. Stratégie de synthèse des sels de phosphoniums boronés fonctionnalisés par un groupement cationique	85
III-1. Synthèse de phosphoniums boronés porteurs du groupement ammonium.....	86
III-2. Synthèse du sel de phosphonium/borate porteur d'un groupement phosphonium	87
IV. Conclusion.....	89

Chapitre 3. Sels de Phosphonium o-trifluoroborates: Préparation et étude de stabilité.....	90
I. Préparation des dérivés trifluoroborates à partir des sels de phosphoniums boronates	92
I-1. Préparation des trifluoroborates dérivés d'acides aminés	92
I-2. Préparation des sels de phosphonium trifluoroborates fonctionnalisés	95
II. Préparation d'un dérivé mono fluoro phosphonium borane	97
III. Étude d'hydrolyse des trifluoroborates	99
III-1. Étude d'hydrolyse des sels de phosphonium trifluoroborates dérivés d'acides aminés	102
III-2. Étude d'hydrolyse des phosphoniums trifluoroborates porteurs d'un groupement cationique.....	106
IV. Conclusion.....	107
 Chapter 4. [¹⁸F]-Radiolabelling of boronate or trifluoroborate phosphoniums	109
I. General considerations	111
II. Direct Isotopic exchange radiolabelling	113
II-1. Radiosynthesis of trifluoroborate phosphonium derived from amino acids (203a-c)	114
II-2. Direct isotopic exchange reaction extend to cationic trifluoroborate derivatives	117
III. By carrier added preparation of [¹⁸ F]F ⁻ with KHF ₂	121
III-1. Radiosynthesis of boronate phosphonium derived from amino acids (148a-b , 150) ...	121
III-2. KHF ₂ carrier added reaction extend to cationic trifluoroborate derivatives	124
IV. Serum stability assay of [¹⁸ F]-203a-c	127
V. Conclusion	127
 Chapter 5. Experimental part.....	129
I. Materials and analytical procedures.....	130
I-1. Analytical procedures	130
I-2. Materials	131
II. Experimental processes.....	132
(2-Bromophenyl)diphenylphosphine 127	132
Diphenyl(2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)phosphine 125	132
Phenyl imino ethyl ether chloride 131	133
(S)-2-Phenyl-4-allyloxycarbonyl-2-oxazoline 132	133
(R)-Allyl-2-benzamido-3-iodopropanoate 122a	133
(S)-2-Phenyl-4-methoxycarbonyl-2-oxazoline 136	134
(S)-2-Phenyl-4-(sodium carboxylate)-2-oxazoline 137	134

(R)-2-Benzamido-3-iodopropanoic acid 122b	135
(R)-{[3- (Allyloxy) -2- benzamido-3-oxopropyl] diphenyl [2- (4,4,5,5 -tetramethyl -1,3,2-dioxa borolan-2-yl) phenyl]} phosphonium iodide 138a	135
(R)- (2-Benzamido-2-carboxyethyl) diphenyl [2- (4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium iodide 138b	136
(S)-2-[(t-Butyloxycarbonyl)amino]-3-methoxycarbonylbutanoic acid 143	137
General procedure for the preparation of N-Boc diesters 144	138
General procedure for the preparation of N,N-diBoc diesters 145	138
General procedure for the preparation of N,N-diBoc Alcohols 146	139
General procedure for the preparation of N,N-diBoc iodo aminoesters 147	140
General procedure for the preparation of N-Boc iodo aminoesters 105	141
General procedure for the preparation of o-boronato phenyl phosphonium aminoesters 148	142
(S)-[3-Ammonium-4-(benzyloxy)-4-oxobutyl]diphenyl[2-(4,4,5,5-tetra methyl-1,3,2 –dioxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium chloride iodide 151b	144
(4-Nitrobenzyl)triphenylphosphonium bromide 156	145
(4-Aminobenzyl)triphenylphosphonium bromide 157	145
p-(Carboxybenzyl)triphenylphosphonium bromide 159	146
(S)- {4 -[4-(Benzyloxy -3- [(tert-butyloxycarbonyl)amino] -4- oxobutanamido]benzyl} triphenyl phosphonium hexafluorophosphate 161	146
(S)-4-[(1-Methoxy-1-oxopropan-2-yl)-carbamoyl]benzyltriphenylphosphonium hexafluorophosphate 162	147
(4-Nitrobenzyl)diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan- 2-yl) phenyl] phosphonium bromide 163	148
(4-Aminobenzyl)diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl] phosphonium bromide 164	149
(4-Carboxybenzyl) diphenyl [2- (4,4,5,5-tetramethyl- 1,3,2- dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium bromide 165	149
(S)-{4-[4-(Benzyloxy) -3- [(tert-butoxycarbonyl)amino]- 4-oxobutanamido] benzyl} diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium hexafluorophosphate 166	150
α -Alanine methyl ester 167	151
Tert-Butyl-(3-iodopropyl)carbamate 169	151
{3-[(Tert-butoxycarbonyl)amino]propyl} diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxa borolan-2-yl)phenyl]phosphonium iodide 172	152
(2-Ammonium-chloro)propyl diphenyl [2- (4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium iodide 173	153
(S)- {3- [4- (Benzyloxy)-3- [(tert-butoxycarbonyl) amino]-4-oxobutanamido] propyl} [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]diphenylphosphonium hexafluorophosphate 174	154
[(2-Dimesitylboryl)phenyl]diphenylphosphine 175	155
(E)-[(Hydroxyl)dimesitylboronato]phenyl-2-diphenyl(prop-1-en-1-yl)phosphonium 177	155
[2-(Dimesitylboryl)phenyl](4-nitrobenzyl)diphenylphosphoniumbromide 178	159
4-Nitrobenzyl iodide 179	159
(S)- (2-Methoxyphenyl) -phenyl- [2-(4,4,5,5-tetramethyl- 1,3,2- dioxaborolan- 2- yl) phenyl] phosphine 188	160

(S)-2-(Potassium trifluoroborate)(2-methoxyphenyl)(phenyl)phosphine 189	161
(S)-(2-Dimesitylboryl)phenyl(2-methoxyphenyl)phenylphosphine 190	161
(S)-{(S)-4-(Benzyloxy)-3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-oxobutyl}(2-methoxyphenyl) (phenyl) [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium iodide 192	162
N,N,N-Triethyl-3-iodopropan-1-ammonium iodide 194	163
N-Benzyl-3-iodo-N,N-dimethylpropan-1-ammonium iodide 196	163
1-(3-Iodopropyl)-4-methylpyridinium iodide 198	164

General procedure for the preparation of o-boronate phosphonium/ ammonium salts 195/197	164
--	-----

(3-Iodopropyl)triphenylphosphonium iodide 200	166
(3-Iodopropyl) diphenyl[2- 4,4,5,5- tetrametyl -1,3,2-dioxaborolan- 2- yl) phenyl] phos- phonium iodide 202	166
{3-[Diphenyl (2-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl]phosphonium} propyl triphenylphosphonium iodide 201	167

General procedure for the preparation of trifluoroborate phosphonium aminoesters 203	168
---	-----

(S)- 3 -[(Tert-butoxy amino) - 3- (hydroxycarbonyl)propyl] 2-(trifluoroborate)phenyl} diphenyl phosphonium 203c	169
(R)-[(2- Benzamido- 2-hydroxycarbonyl)ethyl] (2-trifluoroborate phenyl) diphenyl phosphonium 204b	170
(S)-[3-Amino-3-4-(benzyloxycarbonyl)]propyl -2-trifluoroborate phenyl diphenyl phosphonium hydrochloride 205	171
2-(Trifluoroboratephenyl)diphenyl-3-(tert-butoxycarbonyl)amino propyl phosphonium 211	172
2-(Trifluoroboratephenyl)diphenyl-3-amino propyl phosphonium hydrochloride 212	173
(S)-2-(Trifluoroboratephenyl)-diphenyl-3-[N-3- (tert-butoxycarbonyl)amino-3- (benzyl oxy carbonyl propanoyl)]amino propyl phosphonium 213	173

General procedure for the preparation of trifluoroborate phosphonium ammonium salts 214/215	174
--	-----

Fluoro{dimesityl[2-(4-nitrobenzyl)diphenylphosphonium]phenyl}borate 217	176
--	-----

III. ¹⁹ F NMR spectroscopic Kinetic Analyses	181
---	-----

IV. Radiosynthesis	184
--------------------------	-----

Conclusion générale	188
----------------------------------	-----

Références Bibliographiques	191
--	-----

Introduction Générale

Les aminoacides sont une famille de composés d'intérêt biologique qui constituent les peptides et les protéines, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme humain. A l'exception de la glycine, les aminoacides naturels sont tous des molécules chirales présentes sous la forme optiquement active de configuration (*L*).

Au cours des dernières décennies, la synthèse d'acides aminés non naturels ou modifiés est devenue très importante car ces composés suscitent de multiples intérêts en permettant des modifications illimitées de la structure et de la bioactivité des peptides. Ces changements peuvent ainsi jouer sur la stabilité *in vivo* du peptide, condition nécessaire pour leur éventuelle utilisation comme médicament.

Ainsi, le développement de nouvelles technologies pour améliorer le diagnostic de certaines maladies, pour suivre leurs évolutions ou encore développer de nouveaux médicaments est un défi constant. Dans ce contexte, l'utilisation d'acides aminés modifiés pour marquer toutes sortes de peptides et protéines en préservant leurs propriétés de reconnaissance présente un intérêt considérable.¹

De nombreuses modifications d'acides aminés sont décrites dans la littérature avec le remplacement d'un atome de carbone par un hétéroatome (azote, soufre, oxygène, silicium, phosphore ou bore). Parmi cette grande classe d'acides aminés modifiés, les dérivés boronates/boroniques sont extrêmement attractifs car ils peuvent être utilisés comme inhibiteurs d'enzymes (Velcade®, **Figure 1**),² agents pharmaceutiques (Talabostat®, **Figure 1**),³ pour la synthèse de peptides modifiés⁴ ou encore, en imagerie médicale ([¹⁸F]-FBPA, **Figure 1**).⁵

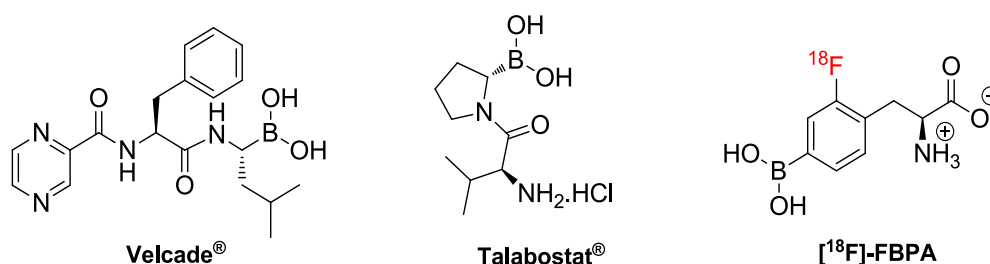


Figure 1: Exemples d'acides aminés porteurs d'un groupement boronique

Depuis une dizaine d'années, l'imagerie médicale connaît une évolution considérable en termes de diagnostic avec la Tomographie par Emission de Positons (TEP). Les aminoacides ou peptides marqués sont de plus en plus utilisés pour la détection et la caractérisation de tumeurs, l'exploration des chemins métaboliques, ou bien le contrôle de la tumeur après traitement. Néanmoins, à ce jour, l'ajout d'un élément radioactif au sein d'acides aminés ou de peptides reste une problématique compliquée dont la maîtrise est d'une importance cruciale.

¹ Zaccaro, L.; del Gatto, A.; Pedone, C.; Saviano, M. *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 780.

² Baker, S. J.; Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. *Chem. Rev.* **2011**, *40*, 4279.

³ Baker, S. J.; Ding, C. Z.; Akama, T.; Zhang, Y. -K.; Hernandez, V.; Xia, Yi. *Future Med. Chem.* **2009**, *7*, 1275.

⁴ Skaff, O.; Jolliffe, K. A.; Hutton, C. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7353.

⁵ Vähätalo, J. K.; Eskola, O.; Bergman, J.; Forsback, S.; Lehtikainen, P.; Jämskeläinen, J.; Solin, O. J. *Label Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 697.

En imagerie médicale, du fait de ses propriétés nucléaires quasi-idéales et sa facilité de production à partir d'eau enrichie en oxygène-18, le fluor-18 a suscité beaucoup d'intérêt.⁶ Cependant, avec une demi-vie de 110 minutes, l'introduction de ce radioélément sur des biomolécules doit se faire de manière efficace et rapide. L'approche par formation d'une liaison C-¹⁸F est la stratégie la plus employée que ce soit par fluoration directe ou indirecte avec l'utilisation de groupements prosthétiques. Cependant, ces méthodes de fluoration présentent certaines limitations telles que de faibles rendements radiochimiques ou des conditions de réactions trop drastiques pour les molécules cibles.

Au cours de ces dernières années, des méthodes utilisant un groupement boré pour introduire des isotopes de courte durée de vie au sein de peptides ont été développées. Toutefois, jusqu'à ce jour, ces méthodes de marquage directes des aminoacides sont toujours peu décrites.

Ce travail de thèse, qui s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre l'Université de Bourgogne et le centre de recherche PET de l'Université de Hull, porte sur **la synthèse de pinces à fluorures dérivées d'acides aminés dans le but d'obtenir une nouvelle classe de [¹⁸F]-radiomarqueurs pour l'imagerie TEP**. Avant d'exposer notre travail proprement dit, une présentation de l'imagerie TEP et des différents radiopharmaceutiques fluorés utilisés actuellement en médecine nucléaire sera réalisée. Les différentes méthodes de marquage d'acides aminés par le fluor-18 et de peptides ainsi que l'utilisation des sels de phosphonium pour l'imagerie TEP seront ensuite abordées.

⁶ Cai, L.; Lu, S.; Pike, V. W. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2853.

Chapitre 1

Étude bibliographique

I. La Tomographie par Émission de Positons (TEP)

I-1. Principe

La radioactivité (1903), le cyclotron (1939), et le radiomarquage (1943) sont de grandes découvertes à l'origine de la Tomographie par Émission de Positons (TEP), et qui ont valu à leurs auteurs respectifs A. Becquerel, P. et M. Curie, E. Lawrence, G. de Hevesy, le prix Nobel. Au cours des années, cette technique d'imagerie nucléaire est devenue un outil essentiel pour le diagnostic médical, plus particulièrement dans les domaines de l'oncologie, la cardiologie et la neurologie. La TEP est également une méthode de choix en pharmacocinétique.^{7, 8}

La tomographie par émission de positons est une technique d'imagerie scintigraphique qui repose sur la détection de rayons γ issus de la désintégration de radioisotopes émetteurs de positons (β^+). Cette méthode d'imagerie non invasive permet de mettre en évidence les processus biologiques à l'échelle moléculaire. On parle alors d'imagerie fonctionnelle par opposition aux techniques d'imagerie dites structurales telles que les rayons X ou l'IRM qui fournissent des images de l'anatomie.⁹

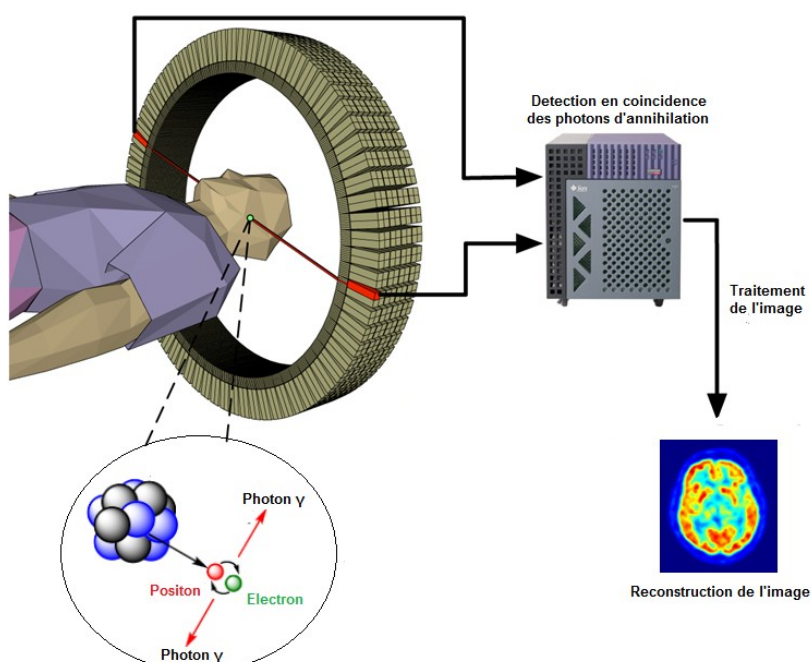


Figure 2: Principe de la Tomographie par Émission de Positons.
(Illustration inspirée de celle de J. Langner)¹⁰

La désintégration radioactive des radionucléides entraîne l'émission d'un positon (e^+) et d'un neutrino (ν_e). Le positon émis se déplace sur une courte distance dans le tissu

⁷ Li, Z.; Conti, P. S. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2010**, 62, 1031.

⁸ Burns, H. D.; Hamill, T. G.; Eng, W.; Francis, B.; Fioravanti, C.; Gibson, R. E. *Curr. Opinion in Chem. Biol.* **1999**, 3, 388.

⁹ Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8998.

¹⁰ Langner, J. University of Applied Sciences, Dresden, **2003**.

environnant avant d'être annihilé par combinaison avec un électron. Ce phénomène d'annihilation produit deux photons γ de 511 keV émis simultanément dans des directions diamétralement opposées. Les photons sont recueillis par les détecteurs de la gamma-caméra située autour du patient et leurs détections en coïncidence permet de déterminer le lieu de leurs émissions.¹¹ C'est cette information quantitative que l'on représente sous la forme d'une image faisant apparaître en couleur les zones de forte concentration du traceur (**Figure 2**).

La tomographie par émission de positons possède une extrême sensibilité permettant ainsi la détection du radiotraceur à des concentrations infimes (de l'ordre du picomolaire). De ce fait, le système biologique peut être étudié grâce aux sondes radioactives sans perturbation.⁷ La contrainte principale de la TEP tient de la conception d'un radiomarqueur, molécule associant un radioélément et un vecteur biologique spécifique d'un récepteur de la cible à étudier (**Figure 3**).¹² En effet, la courte période (ou temps de demi-vie) du radiolélément impose des procédures de marquage relativement courtes (moins de 2 périodes du radioélément) et de travailler avec des quantités de radioactivité importantes pour compenser la décroissance radioactive.¹³

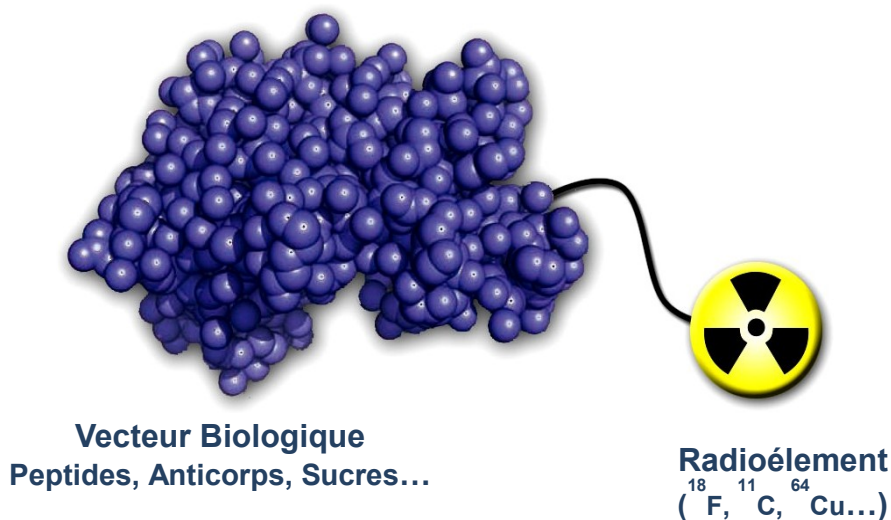


Figure 3: Schéma général d'un radiomarqueur

I-2. Les radioisotopes émetteurs β^+ (ou e^+)

I-2-1. Propriétés des radionucléides

Les émetteurs de positons sont des espèces nucléaires caractérisées par un excès de charges positives dans leurs noyaux. Ils se désintègrent vers un état stable par transformation d'un proton en neutron qui mène à l'émission d'un neutrino (ν_e) et d'un

¹¹ Cherry, S. R. *J. Nucl. Med.* **2006**, 47, 1735.

¹² Wadsak, W.; Mitterhauser, M. *Eur. J. Rad.* **2010**, 73, 461.

¹³ Fowler, J. S.; Wolf, A. P. *Acc. Chem. Res.* **1997**, 30, 181.

positon (e^+). Celui-ci possède une masse identique à celle d'un électron, mais de charge opposée. On parle alors de rayonnement β^+ comme illustré sur le **Schéma 1**.

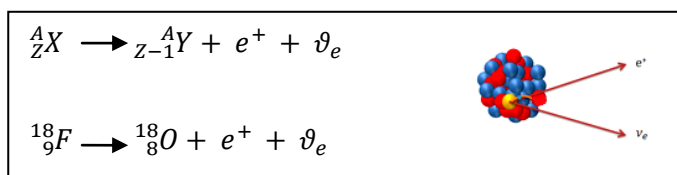


Schéma 1: Rayonnement β^+

Le tableau ci-dessous présente les radionucléides émetteurs de positons les plus fréquemment utilisés en imagerie TEP ainsi que quelques-unes de leurs caractéristiques physiques.

Tableau 1: Caractéristiques physiques de certains radionucléides pour la TEP ^{14, 15}

Nucléide	Temps de demi-vie (min)	Mode de décroissance (% e^+)	Energie max. du e^+ (keV)	Distance effective parcourue dans l'eau par le e^+ (mm)	Production
^{11}C	20,4	99,77	960	3,9	Cyclotron
^{15}O	2,04	100	1732	8	Cyclotron
^{18}F	109,8	97	634	2,3	Cyclotron
^{64}Cu	768	19	653	2,4	Cyclotron
^{68}Ga	68,3	88	1899	8,9	générateur

Les radioisotopes sont principalement sélectionnés suivant leurs caractéristiques physiques et plusieurs paramètres sont alors à prendre en compte:

- le **temps de demi-vie** qui est une donnée importante relative à l'utilisation des radionucléides en imagerie. Il est propre à chaque isotope radioactif et correspond au temps nécessaire pour que la moitié des éléments de l'échantillon se désintègre. Cette période doit être adaptée à l'étude pratiquée, soit suffisamment longue pour permettre la synthèse et le ciblage *in vivo* tout en étant assez brève pour éviter une irradiation prolongée des patients.¹⁴ Le temps de demi-vie détermine également l'utilisation d'un radionucléide en fonction de la proximité ou non de son lieu de production. Par exemple, les radioisotopes à période très courte, tels que le carbone (20,4 min) ou l'oxygène (2,04 min) sont produits directement sur site.

- le **rendement de décroissance positonique** qui représente le nombre de positons émis pour 100 désintégrations du noyau. L'excès de protons peut être éliminé soit par émission d'un positon (**Schéma 1**) ou soit par capture d'un électron (CE) du cortège orbital (**Schéma 2**). Ces deux modes de désintégration sont antagonistes mais pas exclusifs. Un faible rendement positonique se traduit par une dégradation de l'information, et nécessite

¹⁴ Ying, Li. *Sci. China Chem.* **2013**, 56, 1682.

¹⁵ Serdons, K.; Verbruggen, A.; Bormans, G. M. *Methods*, **2009**, 48, 104.

d'augmenter la radioactivité administrée ou le temps d'acquisition.¹⁶ Le fluor-18 est caractérisé de radionucléide β^+ quasi pur du fait de sa décroissance positonique à 97%. *A contrario*, seulement 19% du ^{64}Cu se désintègre par émission de positons (**Tableau 1**).

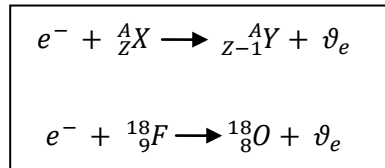


Schéma 2: Capture électronique (CE) : un électron d'une orbitale proche du noyau est capturé par un proton pour former un neutron.

- **L'énergie du positon** qui détermine la distance entre le lieu d'émission du positon et celui de l'annihilation, constitue une limitation pour la qualité de l'image. En effet, plus le positon est énergétique, plus le lieu d'annihilation est éloigné de celui de l'émission, provoquant une diminution de la résolution de l'image. Ce phénomène est caractéristique de chaque radioélément (**Tableau 1**). En effet, la perte de résolution spatiale moyenne varie de 0,7 mm pour un émetteur β^+ de faible énergie tel que le fluor-18 ($E_{\max} \beta^+ = 0,63 \text{ MeV}$) à 5,3 mm pour un émetteur β^+ de haute énergie comme le brome-79 ($E_{\max} \beta^+ = 3,98 \text{ MeV}$).¹⁷

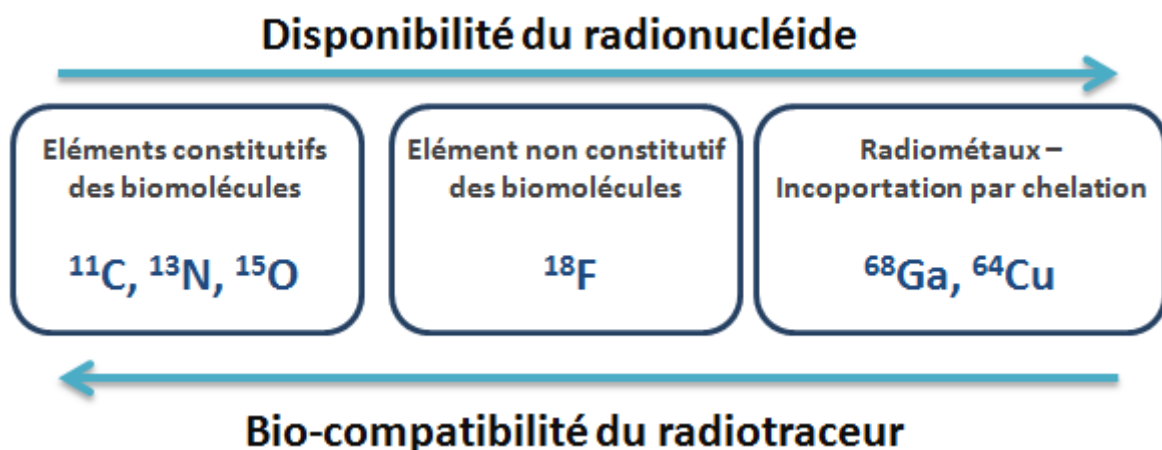


Figure 4: «Compromis» entre la disponibilité du radioélément et la bio-compatibilité du radiomarqueur

La **disponibilité du radioélément** est une donnée importante relative à sa facilité de production et sa possibilité de distribution. D'un autre côté, la **bio-compatibilité d'un radiotraceur** (affinité du traceur pour sa cible, stabilité et possible toxicité induite) est liée aux modifications engendrées lors de l'incorporation du radioélément. En effet, idéalement, les radionucléides ^{11}C , ^{13}N et ^{15}O sont préférés pour l'élaboration de radiomarqueurs puisque le marquage d'une molécule vectrice peut se faire sans modification de la structure chimique. Au contraire, les radiométaux sont introduits par chélation avec un ligand, ce qui peut entraîner des modifications importantes des propriétés pharmacocinétiques du vecteur

¹⁶ Pasqualini, R. *Med. Nucl.* **2005**, 29, 179.

¹⁷ Pagani, M.; Stone-Elander, S.; Larsson, S. A. *Eur. J. Nucl. Med.* **1997**, 24, 1301.

biologique. Il est important de constater que ces deux caractéristiques pointent généralement dans des directions opposées comme cela est illustré sur la **Figure 4**.¹²

I-2-2. Le fluor-18

Le fluor est un atome de petite taille, fortement électroattracteur et généralement non constitutif des biomolécules. Néanmoins, il peut remplacer d'autres atomes ou groupes d'atomes (H ou OH) sans modifier radicalement les propriétés de la molécule. Dans certains cas, les composés fluorés peuvent avoir des propriétés pharmacocinétiques supérieures à celles des homologues non fluorés.¹⁸

Les propriétés nucléaires quasi-idéales (**Tableau 1**) du fluor-18 en font un des isotopes les plus utilisés en imagerie TEP. Sa période de demi-vie de 109,8 min est appropriée pour permettre la synthèse, le transport et le ciblage *in vivo* tout en limitant la dose d'irradiation du patient. Il s'agit d'un émetteur β^+ quasi pur sans émission d'autres rayonnements pénalisants pour l'imagerie et la faible énergie du positon émis mène à des images de hautes qualités. Il peut être produit en grande quantité (>370 GBq) et avec une haute activité spécifique.

Ce radioisotope est produit au moyen d'un cyclotron (**Figure 5**) sous deux formes chimiques: positivement chargé (électrophile) ou riche en électrons (nucléophile).



Figure 5: Cyclotron 7.5 MeV ABT Biomarker Generator cyclotron (ABT Molecular Imaging, Inc. ©, USA) de l'Université de Hull

Le fluor-18 sous forme électrophile ($[^{18}\text{F}]\text{F}_2$) est produit à partir d'une source de néon-20 gazeux, bombardé par des deutons : $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ (**Schéma 3**). Lors de la mise en application de ce procédé, l'addition d'une source de difluor gazeux froid ($^{19}\text{F}_2$) est nécessaire pour éviter que le précurseur $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ ne reste piégé au sein de la cible. Ce mode

¹⁸ Ametamey, S. M.; Honer, M.; Schubiger, P. A. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 1501.

de production a pour conséquence de “diluer” l’espèce radioactive et le $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ est obtenu avec de faible radioactivité spécifique ($< 7.5 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$).¹⁹

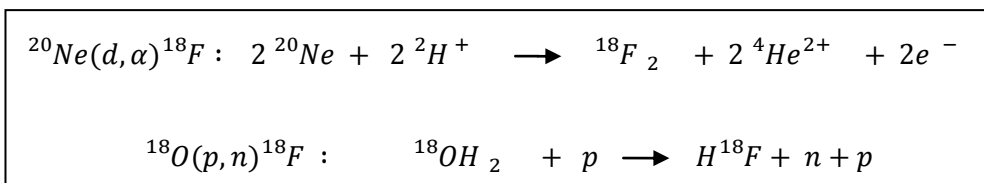


Schéma 3: Réactions nucléaires pour produire le fluor-18

D’un autre côté, la production d’ions $[^{18}\text{F}]$ -fluorures constitue la principale source de $[^{18}\text{F}]$ -fluor nucléophile et repose sur le bombardement d’une eau enrichie en oxygène-18 avec des protons: $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$ (**Schéma 3**). Ainsi, le fluor-18 est obtenu sous forme d’ions fluorures $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ dans l’eau enrichie, rendant les ions faiblement réactifs du fait de leur forte solvation. En général, l’eau est éliminée pour obtenir les ions $[^{18}\text{F}]$ -fluorures avec une nucléophilie adéquate. L’ajout d’un agent complexant tel le Kryptofix-222 (K_{222}) permet également d’augmenter le caractère nucléophile des ions $[^{18}\text{F}]$ -fluorures. Ce caractère nucléophile est d’autant plus élevé que les $[^{18}\text{F}]$ -fluorations sont réalisées dans des solvants aprotiques polaires tels que le DMF, le DMSO ou l’acétonitrile. Contrairement au premier mode de production, cette méthode permet d’accéder à du fluor-18 possédant une haute activité spécifique (de l’ordre de $185 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$).^{19,20}

II. Les principaux radiopharmaceutiques fluorés utilisés en TEP

A ce jour, des milliers de composés ont déjà été marqués par des émetteurs de positons, cependant très peu ont reçu une autorisation de mise sur le marché (AMM), à savoir le $[^{18}\text{F}]$ -2-fluoro-2-désoxy-D-glucose ($[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$), la 6- $[^{18}\text{F}]$ -fluoro-L-DOPA ($[^{18}\text{F}]\text{-FDOPA}$) et plus récemment la $[^{18}\text{F}]$ -fluorocholine ($[^{18}\text{F}]\text{-FCH}$). D’autres radiotraceurs émergents tels que la 3'-désoxy-3'- $[^{18}\text{F}]$ -fluorothymidine ($[^{18}\text{F}]\text{-FLT}$) et la O-(2- $[^{18}\text{F}]$ -fluoroéthyl)-L-tyrosine ($[^{18}\text{F}]\text{-FET}$) sont actuellement en développement clinique.

¹⁹ Le Bars, D. J. *Fluor. Chem.* **2006**, 127, 1488.

²⁰ Koivula, T.; Simecek, J.; Jalomäki, J.; Helariutta, K.; Airaksinen, A. J. *Radiochim. Acta* **2011**, 99, 293.

II-1. Le [^{18}F]-2-fluoro-2-désoxy-D-glucose ([^{18}F]-FDG)

Le [^{18}F]-FDG est le radiotraceur émetteur de positons le plus employé, et plus particulièrement en oncologie. Ce radiopharmaceutique a reçu en 1998 une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France.

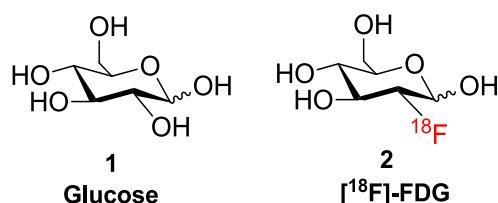


Figure 6 : Structure du glucose et du [^{18}F]-FDG

Le [^{18}F]-FDG est un glucose modifié dont le groupement hydroxyle en position 2 est substitué par un atome de fluor (**Figure 6**). Celui-ci pénètre dans les cellules grâce aux transporteurs membranaires (GLUT), puis est phosphorylé par l'hexokinase en [^{18}F]-2-désoxyglucose-6-phosphate (FDG-6-P). Contrairement au glucose, l'absence du groupement hydroxyle en position 2 mène au blocage enzymatique du [^{18}F]-FDG phosphorylé et entraîne sa rétention dans la cellule. Cette accumulation met ainsi en évidence les cellules dont l'activité glycolytique est augmentée, en particulier les cellules tumorales qui surexpriment les récepteurs de glucose (**Figure 7**).²¹

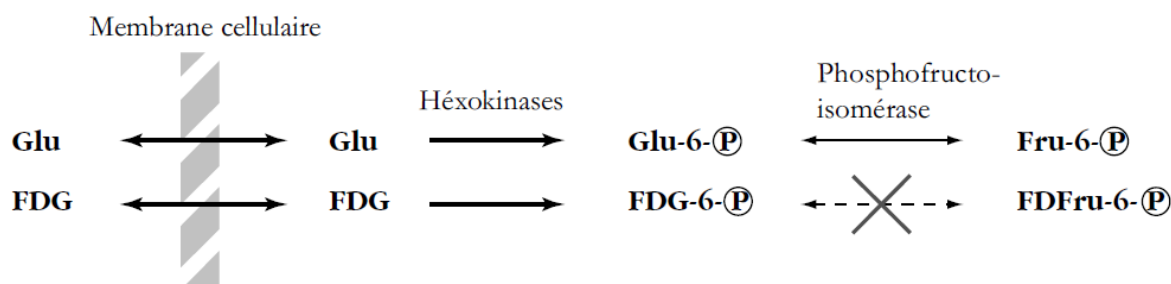


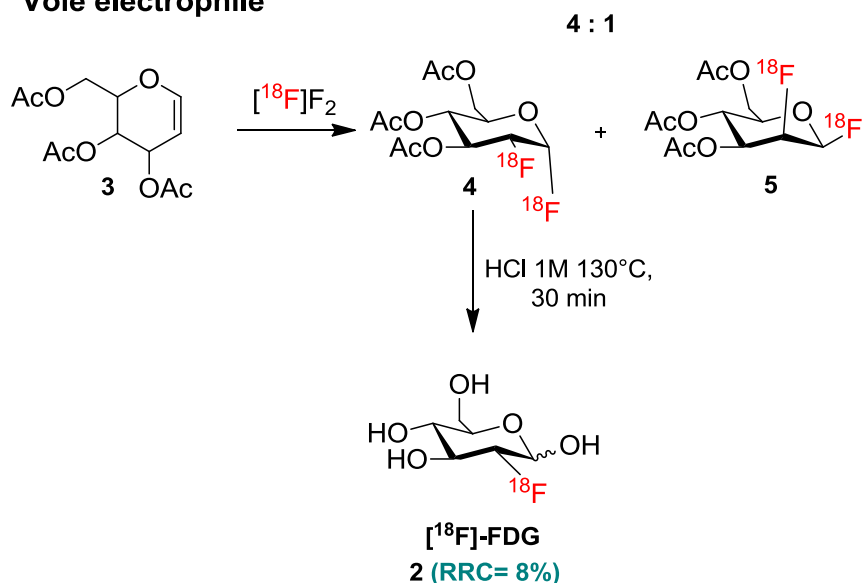
Figure 7: Mécanisme d'accumulation du [^{18}F]-FDG

Cependant, l'hyperfixation glycolytique n'est pas spécifique des cellules cancéreuses et peut également être augmentée dans certaines pathologies bénignes telles que les inflammations ou les infections, ce qui peut conduire à des faux positifs lors d'examen scintigraphique au [^{18}F]-FDG.²² Par ailleurs, dans le cas de certaines pathologies cancéreuses, l'utilisation du [^{18}F]-FDG est insuffisante du fait de la fixation physiologique du traceur dans le cerveau ou le foie.

²¹ Pauwels, E. K. J.; Ribeiro, M. J.; Stoot, J. H. M. B.; McCready, V. R.; Bourguignon, M.; Mazière, B. *Nucl. Med. Biol.* **1998**, 25, 317.

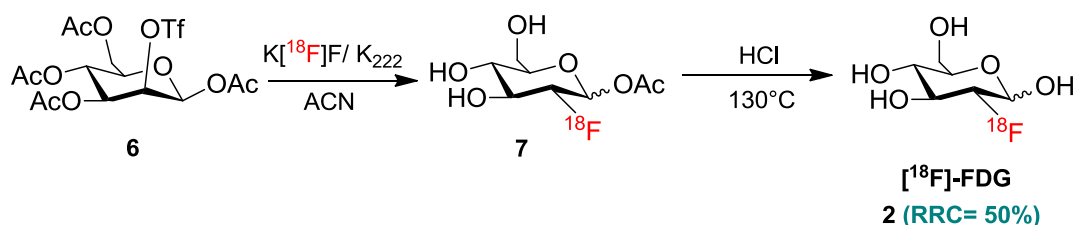
²² Abouzied, M. M.; Crawford, E. S.; Nabi, H. A. *J. Nucl. Med. Technol.* **2005**, 33, 145.

Voie électrophile

Schéma 4: Synthèse du $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ par voie électrophile

La première synthèse du $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ **2** a été mise au point en 1977 par Ido *et al.* et repose sur l'addition électrophile du difluor $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}_2$ sur un triacétyle glucal **3** (Schéma 4).²³ Cette méthode présente l'inconvénient de former l'épimère **5** (le fluorodésoxymannose ou FDM) dans un ratio 4 : 1. Au final, le $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ est isolé avec un rendement radiochimique (RRC) de 8%, après séparation et hydrolyse en milieu acide.²³

Voie nucléophile

Schéma 5: Voie de synthèse du $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ par voie nucléophile

La production du $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ **2** est maintenant réalisée par voie nucléophile selon la méthode développée par Hamacher *et al.* (Schéma 5). Cette méthode repose sur la substitution nucléophile du groupement triflate en position 2 du précurseur **6** par un $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-}$ fluorure, préalablement activé avec le cryptand K_{222} . Cette substitution se produit avec inversion de configuration et il est nécessaire d'utiliser un mannose protégé pour obtenir le glucose avec un rendement radiochimique de 50% en 50 minutes.²⁴

²³ a) Ido, T.; Wan, C.-N.; Casella, V.; Folwer, J. S.; Wolf, A. P. *J. Label Compd. Radiopharm* **1977**, 2, 175. b) Folwer, J. S.; Ido, T. *Sem. Nucl. Med.* **2002**, XXXII, 6.

²⁴ Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. *J. Nucl. Med.* **1986**, 27, 235.

II-2. La L-6-[¹⁸F]-fluoro-3,4-dihydroxyphénylalanine ([¹⁸F]-FDOPA)

La [¹⁸F]-FDOPA est le deuxième radiopharmaceutique fluoré à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché en France (2006).²⁵ Ce radiopharmaceutique est indiqué en neurologie pour imager la dégénérescence des neurones dopaminergiques notamment dans la maladie de Parkinson. En oncologie, la [¹⁸F]-FDOPA est utilisée pour localiser les tumeurs neuroendocrines bien connues pour surexprimer l'activité de la L-DOPA décarboxylase et stocker la dopamine formée.²⁶

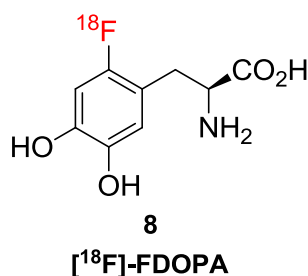


Figure 8: Structure de la [¹⁸F]-FDOPA

La [¹⁸F]-FDOPA est un analogue de la L-DOPA, aminoacide précurseur de la dopamine (**Figure 8**). Ce neurotransmetteur du système nerveux est largement lié au dysfonctionnement du système dopaminergique, et ainsi à plusieurs pathologies neurologiques, psychiatriques ou tumorales.

In vivo, la dopamine est synthétisée à partir de la L-Tyrosine. La première étape repose sur la conversion de la tyrosine en L-DOPA par action de l'enzyme Tyrosine hydroxylase (TH). La L-DOPA est ensuite captée par les neurones où elle est transformée en dopamine par la L-DOPA décarboxylase (**Schéma 6**).²⁷ La 6-[¹⁸F]-fluoro-L-DOPA adopte le même comportement que la L-DOPA, lui permettant d'être un traceur dopaminergique présynaptique.

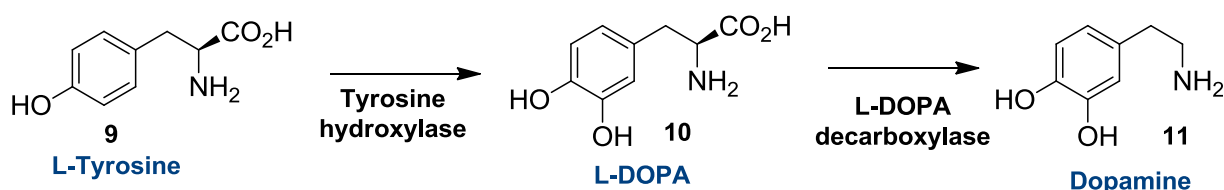


Schéma 6: Synthèse intracellulaire de la dopamine à partir de la L-Tyrosine

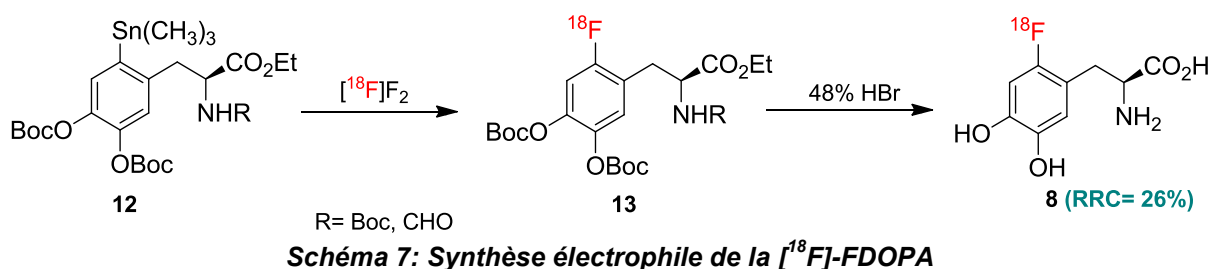
La [¹⁸F]-FDOPA peut être synthétisée selon plusieurs approches. Actuellement, la radiofluorination par déstannylation qui est la méthode utilisée pour obtenir la [¹⁸F]-FDOPA, a été adaptée sur automate pour une production en routine (**Schéma 7**). La fluoration est réalisée sur un dérivé stannylé et protégé de la L-DOPA **12** avec du difluor [¹⁸F]F₂. Après hydrolyse en milieu acide, la [¹⁸F]-FDOPA est isolée sans racémisation avec un rendement

²⁵ de Beco, V.; Le Bars, D.; Scherrmann, J-M. *Ann. Pharm. Fr.* **2008**, 66, 60.

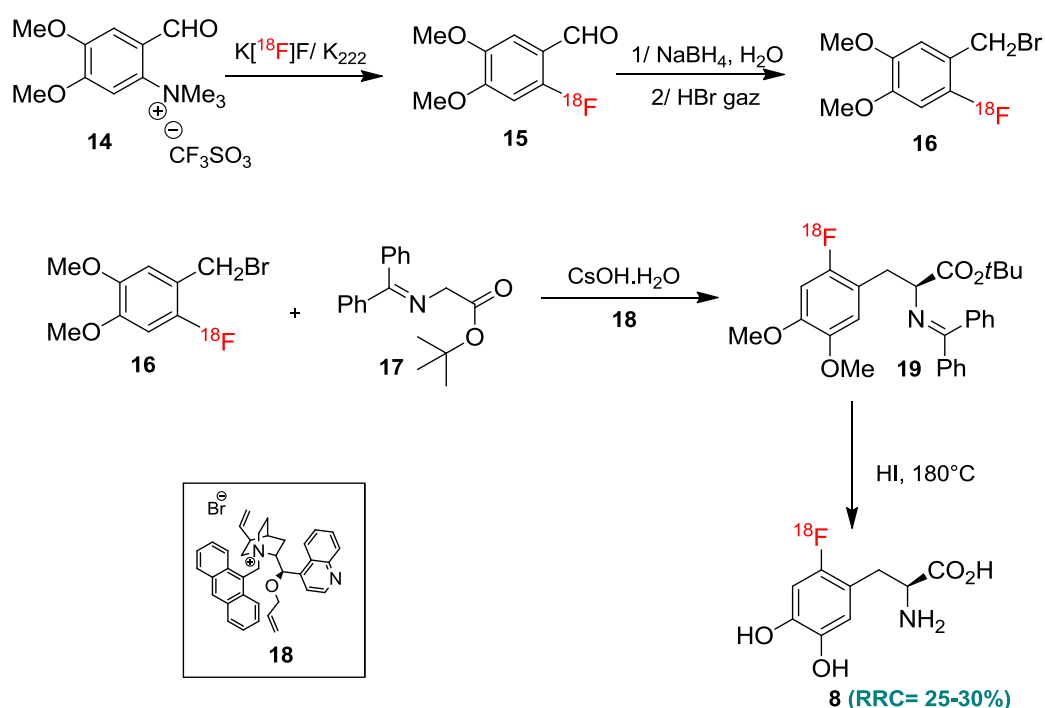
²⁶ Becherer, A.; Szabo, M.; Karanikas, G.; Wunderbaldinger, P.; Angelberger, P.; Raderer, M., Kurtaran, A.; Dudczak, R.; Kletter, K. *J. Nucl. Med.* **2004**, 45, 1161.

²⁷ a) Vallabhajosula, S. *Sem. Nucl. Med.* **2007**, 400. b) Nanni, C.; Fanti, S.; Rubello, D. *J. Nucl. Med.* **2007**, 48, 1577.

radiochimique maximum de 26% en 50 minutes. Néanmoins, l'activité spécifique obtenue via cette approche reste faible (4,44 MBq/μmol).²⁸



Une seconde méthode développée par Lemaire *et al.* consiste à synthétiser l'acide aminé de la [¹⁸F]-FDOPA par alkylation énantiosélective à partir du dérivé glycine **17**. Le fluor-18 est tout d'abord introduit par substitution nucléophile du triméthylammonium **14** dérivé du vétratraldéhyde. L'induction asymétrique au cours de l'alkylation de **17** est réalisée par catalyse par transfert de phase en présence du sel d'ammonium quaternaire **18**. L'hydrolyse acide permet d'obtenir la [¹⁸F]-FDOPA avec un rendement radiochimique de 25-30% après un temps de radiosynthèse de 100 minutes et un excès énantiomérique supérieur à 95% (**Schéma 8**).²⁹



²⁸ a) Dolle, F.; Demphel, S.; Hinnen, F.; Fournier, D.; Vaufrey, F.; Crouzel, C. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1997**, XL1, 105. b) Namavari, M.; Bishop, A.; Satyamurphy, N.; Bida, G.; Barrio, J. R. *Appl. Radiat. Isot.* **1992**, 43, 989.

²⁹ Lemaire, C.; Gillet, S.; Guillouet, S.; Plenevaux, A.; Aerts, J.; Luxen, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2899.

Des récents progrès de cette synthèse ont permis de réduire le temps de réaction à 60 minutes et d'isoler la [^{18}F]-FDOPA avec une activité spécifique allant jusqu'à 753 GBq/ μmol , ce qui permet d'en envisager le développement en routine sur automate.³⁰

II-3. La [^{18}F]-fluorocholine ([^{18}F]-FCH)

A l'heure actuelle, la [^{18}F]-fluorocholine, dont l'AMM a été accordée en 2010, est utilisée en oncologie pour imager des pathologies, telles que des tumeurs de la prostate ou des carcinomes hépatocellulaires dans lesquelles une augmentation accrue de l'incorporation de la choline est observée (**Figure 9**).

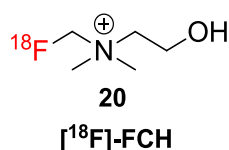


Figure 9: Structure de la [^{18}F]-fluorocholine

La choline qui est constituée d'un ammonium quaternaire et d'une fonction alcool, est un précurseur pour la biosynthèse des phospholipides, constituants essentiels des membranes cellulaires. Son analogue fluoré ou fluorocholine **20**, dont un atome d'hydrogène a été remplacé par un atome de fluor a le même métabolisme : entrée dans les cellules par les transporteurs spécifiques, phosphorylation par la choline kinase en phosphofluorocholine qui reste piégée dans les cellules. Cette accumulation reflète l'augmentation de la choline et donc de l'activité de la choline kinase, caractéristique de certains processus tumoraux.³¹

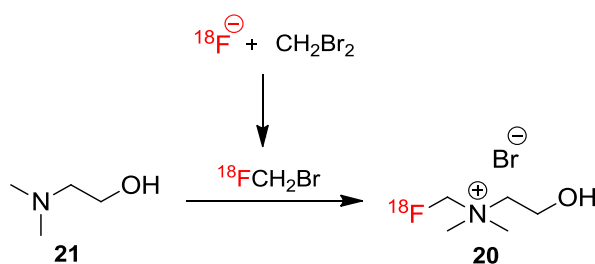


Schéma 9: Radiosynthèse de la [^{18}F]-fluorocholine 20

La première synthèse de la [^{18}F]-FCH **20** a été reportée en 2000, par DeGrado *et al.* (**Schéma 9**).³² Le précurseur radioactif est préalablement préparé par réaction de [^{18}F]-fluorures avec le dibrométhane. Ensuite, le [^{18}F]-fluorobromométhane réagit avec la

³⁰ Libert, L. C.; Franci, X.; Plenevaux, A. R.; Ooi, T.; Maruoka, K.; Luxen, A.; Lemaire, C. *J. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 1154.

³¹ Couturier, O.; Luxen, A.; Chatal, JF.; Vuillez, JP.; Rigo, P.; Hustinx, R. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2004**, *31*, 1182.

³² DeGrado, T. R.; Coleman, R. E.; Wang, S.; Baldwin, S. W.; Orr, M. D.; Robertson, C. N.; Polascik, T. J.; Price, D. T. *Cancer Res.* **2000**, *61*, 110.

diméthyléthanolamine **21** et la [^{18}F]-fluorocholine **20** est isolée avec un rendement radiochimique compris entre 20 et 40% (non corrigé de la décroissance).

En 2002, une synthèse automatisée de la [^{18}F]-fluorocholine a été développée par Iwata *et al.*, par réaction du [^{18}F]-fluorométhyltriflate avec la diméthyléthanolamine sur un système de colonne Sep-Pak. Le temps total requis pour isoler la [^{18}F]-fluorocholine est de 30 minutes avec un rendement radiochimique de 40%.³³

II-4. La [^{18}F]-3'-désoxy-3'-fluorothymidine ([^{18}F]-FLT)

La prolifération cellulaire est spécifique des tumeurs tandis que le métabolisme du glucose (glycolyse) est une simple caractéristique des cancers, souvent associée à d'autres phénomènes tels que les inflammations.^{27a} Dans ce contexte, la [^{18}F]-FLT a été développée pour pallier les limitations du [^{18}F]-FDG (manque de spécificité) en ciblant la prolifération cellulaire.³⁴ Ce traceur est un analogue radiomarké de la thymidine, base pyrimidique de l'ADN (**Figure 10**).

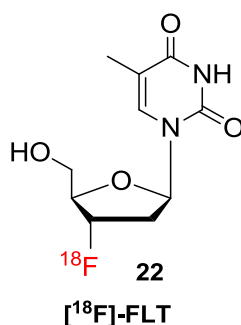


Figure 10: Structure de la [^{18}F]-3'-désoxy-3'-fluorothymidine

Le métabolisme de la [^{18}F]-FLT est régulé par la thymine kinase 1 (TK 1), enzyme surexprimée par les cellules tumorales. Contrairement à la thymidine, la [^{18}F]-FLT est peu voire pas incorporée dans l'ADN et s'accumule dans la cellule sous forme de métabolites phosphatés.³⁵

La première synthèse de la [^{18}F]-FLT a été décrite en 1991, mais avec un faible rendement radiochimique (7%) ne permettant pas d'envisager son utilisation pour un usage en routine.³⁶ Ces résultats ont ainsi amené la mise au point de précurseurs de fluoration appropriés combinant un site électrophile activé en position 3' et un groupement protecteur adapté pour le NH du cycle pyrimidine. En 2000, Grierson et Shields ont ainsi utilisé le dérivé nosylate **23** protégé par le 2,4-diméthoxybenzyl en position N^3 (**Schéma 10**). Après

³³ Iwata, R.; Pascali, C.; Bogani, A.; Furumoto, S.; Terasaki, K.; Yanai, K. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 347.

³⁴ Been, L. B.; Suurmeijer, A. J. H.; Cobben, D. C. P.; Jager, P. L.; Hoekstra, H. J.; Elsinga, P. H. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2004**, *31*, 1659.

³⁵ Shields, A. F. *J. Fluor. Chem.* **2003**, *44*, 1432.

³⁶ Wilson, I. K.; Chatterjee, S.; Wolf, W. *J. Fluor. Chem.* **1991**, *55*, 283.

oxydation par le nitrate de cérium et d'ammonium (CAN), la [^{18}F]-FLT est alors isolée avec un rendement radiochimique de 13% en moins de 100 minutes.³⁷

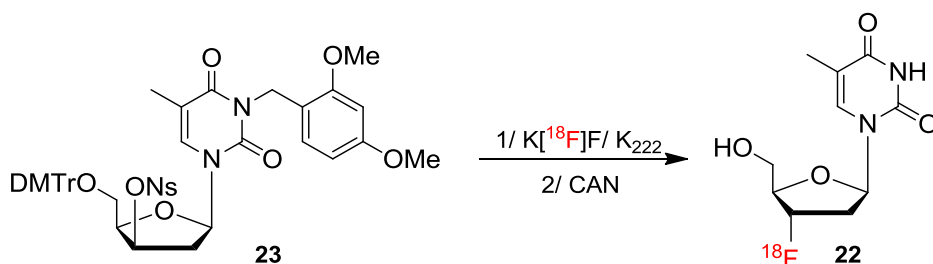


Schéma 10: Synthèse de la [^{18}F]-FLT 22 selon Grierson et Shield

Actuellement, le 3-*N*-Boc-1-[5-*O*-(4,4'-diméthoxytrityl)-3-*O*-nosyl-2-déoxy- β -D-lyxofuranosyl] thymine **24** est le précurseur le plus utilisé et dont la déprotection a été simplifiée par hydrolyse acide (**Schéma 11**).³⁸ L'équipe de Moon *et al.* a mis au point l'automatisation de la production de la [^{18}F]-FLT via le précurseur *N*-Boc **24** avec un temps de synthèse de 60 minutes et un rendement radiochimique de 50%.³⁹

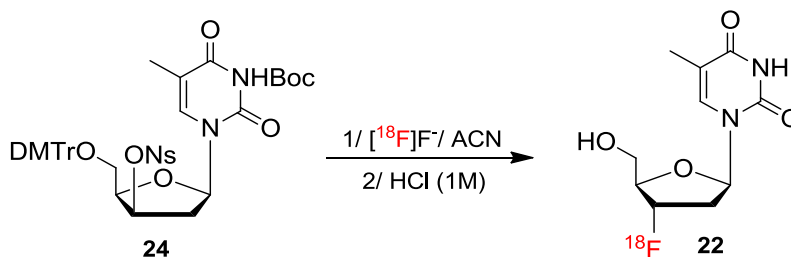


Schéma 11: Synthèse actuelle de la [^{18}F]-FLT 22

II-5. La *O*-(2-[^{18}F]fluoroéthyl)-L-tyrosine ([^{18}F]-FET)

La *O*-(2-[^{18}F]fluoroéthyl)-L-tyrosine est un radiotracer dérivé de la L-tyrosine, et actuellement en essai clinique pour la détection de tumeurs cérébrales. Bien que la [^{18}F]-FET ne soit pas incorporée dans les protéines, des études ont montré que le système de transport des aminoacides est responsable de l'accumulation de la [^{18}F]-FET dans les tissus tumoraux.⁴⁰

La radiosynthèse de la [^{18}F]-FET est effectuée en routine selon deux approches. La première, décrite en 1999 par l'équipe de Stöcklin *et al.*,⁴¹ repose sur une réaction en deux

³⁷ Grierson, J. R.; Shields, A. F. *Nucl. Med. Biol.* **2000**, 27, 143.

³⁸ Martin, S. J.; Eisenbarth, J. A.; Wagner-Utermann, U.; Mier, W.; Henze, M.; Pritzkow, H.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M. *Nucl. Med. Biol.* **2002**, 29, 263.

³⁹ Oh, S. J.; Mosdzianowski, C.; Chi, D. Y.; Kim, J. Y.; Kang, S. K.; Ryu, J. S.; Y, J. S.; Moon, D. H. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, 31, 803.

⁴⁰ Heiss, P.; Mayer, S.; Herz, M.; Wester, H.-J.; Schwaiger, M.; Senekowitsch-Schmidtke, R. *J. Nucl. Med.* **1999**, 40, 1367.

⁴¹ Wester, H. J.; Herz, M.; Weber, W. Heiss, P.; Senekowitsch-Schmidtke, R.; Schwaiger, M.; Stöcklin, G. *J. Nucl. Med.* **1999**, 40, 205.

étapes (50 minutes) avec un rendement radiochimique de 40%. L'éthylèneglycol-1,2-ditosylate **25** est tout d'abord fluoré, puis alkylé par substitution nucléophile avec le phénate dérivé de la tyrosine **27** (**Schéma 12a**). L'inconvénient principal de cette méthode provient de la difficulté de mettre en œuvre une automatisation due à la purification nécessaire par HPLC du précurseur intermédiaire fluoré **26**.

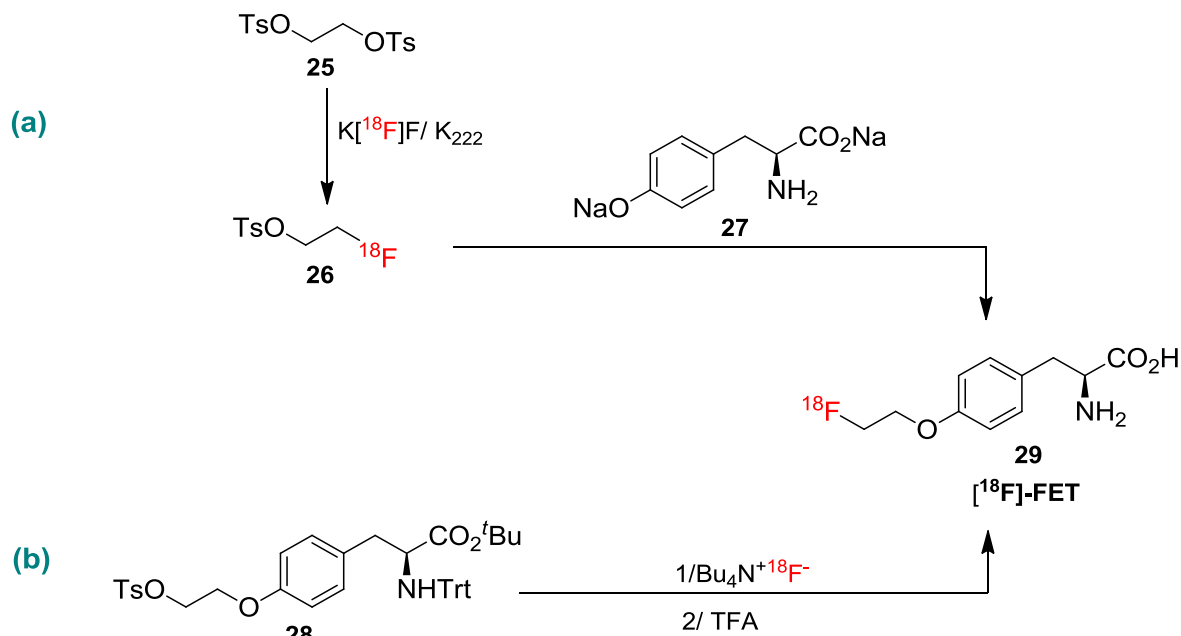


Schéma 12: Radiosynthèse de la $[^{18}F]$ -FET

La seconde approche repose sur la fluoration nucléophile de l'O-(2-tosyloxyéthyl)-*N*-trityl-L-tyrosine *tert*-butyl **28** en présence de $[^{18}F]$ -fluorure de tetrabutylammonium, suivi d'une hydrolyse acide par l'acide trifluoroacétique. La $[^{18}F]$ -FET **29** est alors isolée avec 60% de rendement radiochimique en 80 minutes (**Schéma 12b**).⁴²

Pour résumer, actuellement, les principaux radiopharmaceutiques fluorés sont utilisés pour le diagnostic de différentes pathologies. Toutefois, l'analyse de leur rôle biologique soulève certaines limites à leur utilisation, notamment en termes de spécificité *in vivo*. C'est la raison pour laquelle il apparaît intéressant de concevoir de nouveaux radiotraceurs ayant une meilleure affinité et spécificité vis-à-vis d'un processus biologique donné *via* des méthodes efficaces.

⁴² Hamacher, K.; Coenen, H. H. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, 57, 853.

III. Marquage d'acides aminés et de peptides par le fluor-18

Beaucoup de récents travaux montrent que les acides aminés et les peptides sont devenus des biomarqueurs intéressants pour la médecine nucléaire, utilisés aussi bien pour le diagnostic que pour la thérapie.^{1,43} En effet, ceux-ci présentent une cinétique d'élimination et une stabilité métabolique favorable et surtout, tolèrent les modifications structurales que peut engendrer le radiomarquage.⁴⁴ Ainsi, le développement de méthodologies de marquage spécifiques et compatibles avec la nature des biomolécules (complexité, fragilité) sans en modifier leurs propriétés présente un intérêt considérable.

Néanmoins, le radiomarquage est soumis à des fortes contraintes liées à la radioactivité (travail sous hottes blindées, protection contre les radiations), à la nécessité d'obtenir des radiopharmaceutiques avec une haute activité spécifique et au temps de demi-vie des radioéléments (synthèse rapide, peu d'étapes). Idéalement, le temps de synthèse et purification du radiotraceur ne doit pas excéder 2 périodes du radionucléide utilisé. Dans le cas du fluor-18, le radiopharmaceutique devra être préparé en moins de 4 heures maximum. Ainsi, un compromis entre temps et rendement est nécessaire : une réaction même incomplète mais rapide sera toujours préférée à une réaction complète mais lente.

Il faut également tenir compte du facteur dilution. En effet, les quantités du radioélément fournies par le cyclotron sont extrêmement faibles (échelle du picomolaire au nanomolaire), entraînant un très large excès stœchiométrique des autres réactifs par rapport à l'isotope d'intérêt. Ce ratio inhabituel amène un avantage en terme de cinétique réactionnelle (vitesse de réaction augmentée).¹⁸ Cependant, lors de ces réactions à petite-échelle, la moindre impureté peut être source de réactions parasites.⁹

III-1. Marquage par création de liaisons C-¹⁸F

Le développement de radiotraceur par création de liaisons C-¹⁸F est la stratégie la plus employée. Actuellement, il est possible de distinguer deux voies synthétiques de fluoration. La première consiste à réaliser la fluoration directe du traceur par les ions [¹⁸F]-fluorures. La seconde, ou fluoration indirecte, exploite l'utilisation de groupements prosthétiques porteurs du radioélément et implique une synthèse convergente.

III-1-1. Stratégie de marquage par fluoration directe

La fluoration directe peut être réalisée par voie électrophile ou nucléophile.

⁴³ McConathy, J.; Yu, W.; Jarkas, N.; Seo, W.; Schuster, D. M.; Goodman, M. M. *Med. Res. Rev.* **2012**, 32, 868.

⁴⁴ Schottelius, M.; Wester, H-J. *Methods* **2009**, 48, 161.

III-1-1-1. [^{18}F]-fluoruration électrophile

Aujourd'hui, les fluorations électrophiles sont peu utilisées principalement pour les raisons suivantes. D'une part, les produits marqués sont obtenus avec de faibles activités spécifiques puisque la préparation du [^{18}F]F₂ nécessite l'emploi de ^{19}F . D'autre part, malgré la bonne réactivité du [^{18}F]F₂ sur des groupements électroniquement enrichis (cycles aromatiques, alkynes...), les réactions ne sont pas sélectives et conduisent à des mélanges d'espèces fluorées.⁹

Certains groupes de chercheurs se sont concentrés sur l'élaboration de nouveaux précurseurs issus du [^{18}F]F₂. Ainsi, l'hypofluorure d'acétyl ([^{18}F]-AcOF) est communément utilisé lors des fluorations électrophiles, et a été employé pour le marquage d'un peptide, le cyclo(RGDfMeV) pour l'imagerie des intégrines (**Schéma 13**).⁴⁵ Néanmoins, même avec ce nouveau précurseur, cette approche a montré les mêmes limites en termes de régiosélectivité avec la formation de plusieurs isomères.⁴⁵

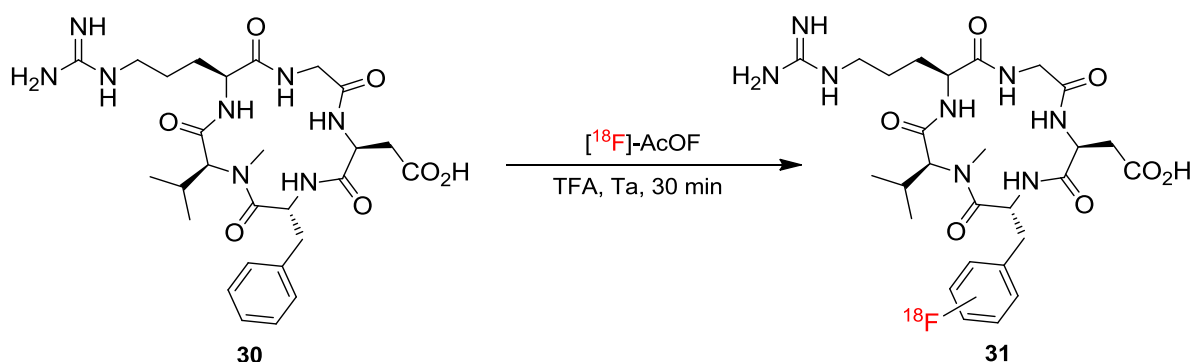


Schéma 13: [^{18}F]-Fluoruration électrophile directe par le [^{18}F]-AcOF

Une seconde méthode consiste à réaliser la fluoruration par démétallation d'intermédiaires organométalliques préalablement synthétisés. Un exemple de ce type de réaction est la synthèse de la [^{18}F]-FDOPA à partir d'un précurseur d'étain (*i.e.* 11-2. La L-6-[^{18}F]fluoro-3,4-dihydroxyphénylalanine ([^{18}F]-FDOPA)).²⁸ Une démétallation similaire a été employée pour la préparation du 2-[^{18}F]-fluoro-L-tyrosine **33** (**Schéma 14**).⁴⁶ Un des principaux inconvénients de cette approche vient du fait que les traceurs sont produits avec de faibles activités spécifiques (<1GBq/ μmol).

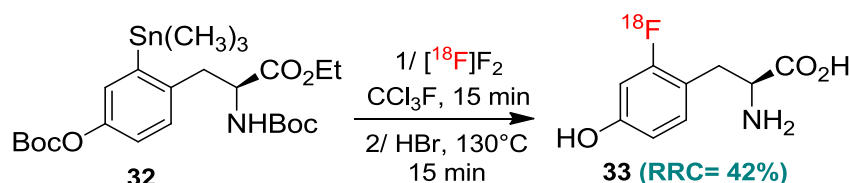


Schéma 14: Synthèse de la 2-[^{18}F]-fluoro-L-tyrosine par démétallation

⁴⁵ Ogawa, M.; Hatano, K.; Oishi, S.; Kawasumi, Y.; Fujii, N.; Kawaguchi, M.; Doi, R.; Imamura, M.; Yamamoto, M.; Ajito, K.; Mukai, T.; Saji, H.; Ito, K. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, 30, 1.

⁴⁶ Hess, E.; Sichler, S.; Kluge, A.; Coenen, H. H. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, 57, 185.

III-1-1-2. [^{18}F]-fluoruration nucléophile

Actuellement, les [^{18}F]-fluorurations nucléophiles sont utilisées en routine pour la préparation de radiotraceurs employés en milieu clinique tels que le [^{18}F]-FDG ou la [^{18}F]-FLT.⁹ Dans le domaine qui nous intéresse plus précisément, le marquage de peptides ou d'acides aminés a été décrit selon plusieurs méthodes.

Ametamey *et al.* ont rapporté une méthode simple et directe qui repose sur l'attaque nucléophile d'une aziridine dérivée de la sérine par les ions [^{18}F]-fluorures (**Schéma 15**). Cette approche a été appliquée pour le marquage de peptides (**34**, **35**) à 70 °C en milieu faiblement basique et les [^{18}F]-fluoropeptides ([^{18}F]-**34** et -**35**) sont obtenus en 15 minutes avec des conversions HPLC modestes.⁴⁷

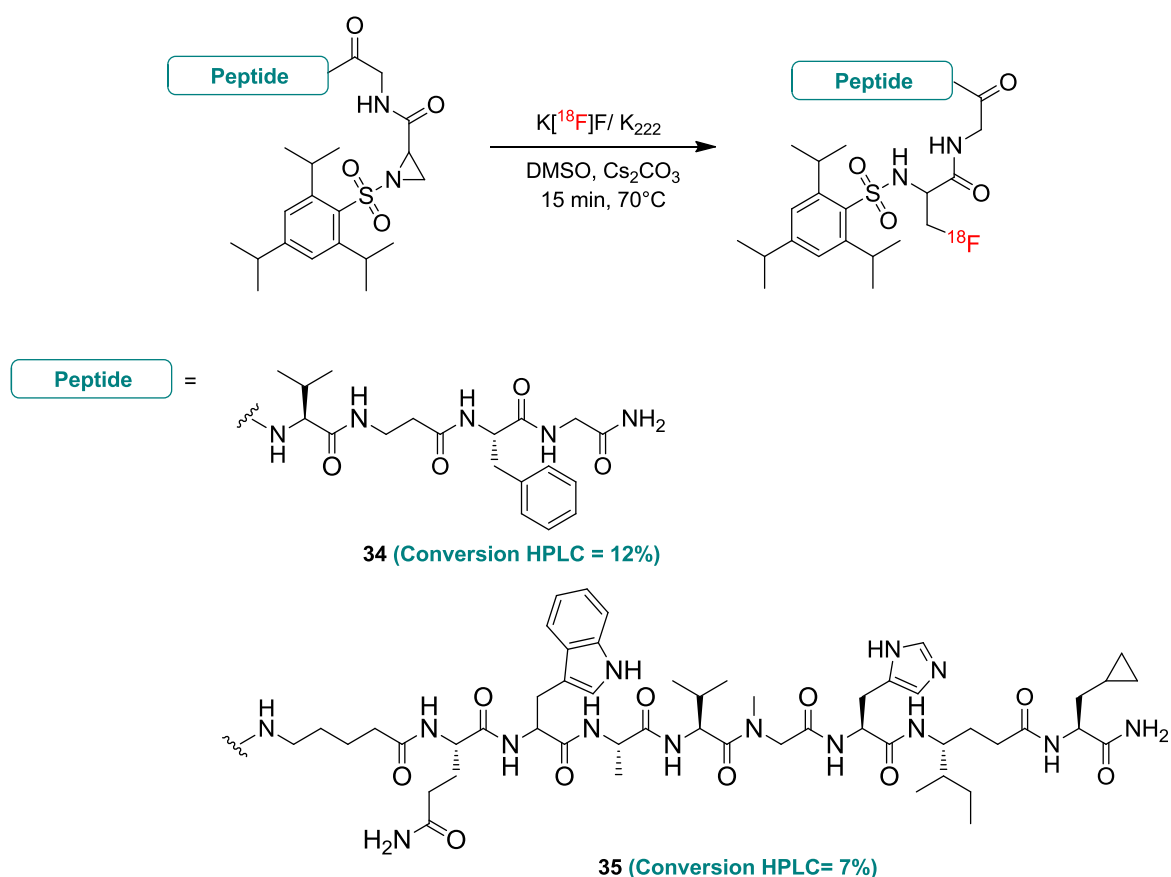


Schéma 15: [^{18}F]-fluoruration directe par ouverture d'aziridine

Une autre méthode de marquage repose sur la [^{18}F]-fluoruration par substitution nucléophile, en série aliphatique ou aromatique.

Une des conditions nécessaires aux réactions de substitution nucléophile par les ions [^{18}F]-fluorures est la présence d'un très bon groupement partant tel que le triflate, le tosylate ou l'atome d'iode. Néanmoins, dans le cas de molécules fonctionnalisées comme les acides aminés, cette approche nécessite la mise en œuvre de réactions de protection et de déprotection des autres sites augmentant ainsi le temps total de synthèse. Comme exemples

⁴⁷ Roehn, U.; Becaude, J.; Mu, L.; Srinivasan, A.; Stellfeld, T.; Fitzner, A.; Graham, K.; Dinkelborg, L.; Schubiger, A. P.; Ametamey, S. M. *J. Fluor. Chem.* **2009**, 130, 902.

de fluorations nucléophiles aliphatiques, on peut citer le radiomarquage de la O-(2-[^{18}F]-fluoroéthyl)-L-tyrosine ([^{18}F]-FET)⁴² ou du [^{18}F]-FAMB **38**⁴⁸ (**Schéma 16**). Dans ce dernier cas, la fluoration est réalisée sur le dérivé tosylé protégé **36** avec le complexe $\text{K}[^{18}\text{F}]\text{F}/\text{K}_{222}$ dans l'acétonitrile à 85°C. Après déprotection en milieu acide, le [^{18}F]-FAMB est isolé avec 36% de rendement radiochimique en un peu plus d'une heure.⁴⁸

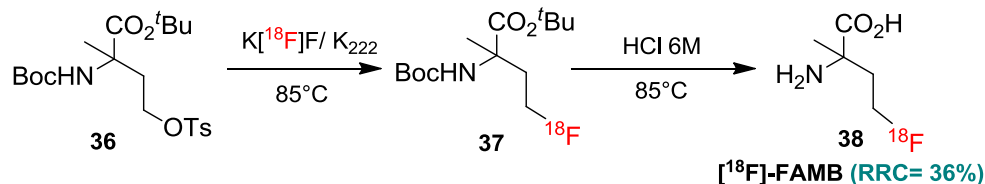


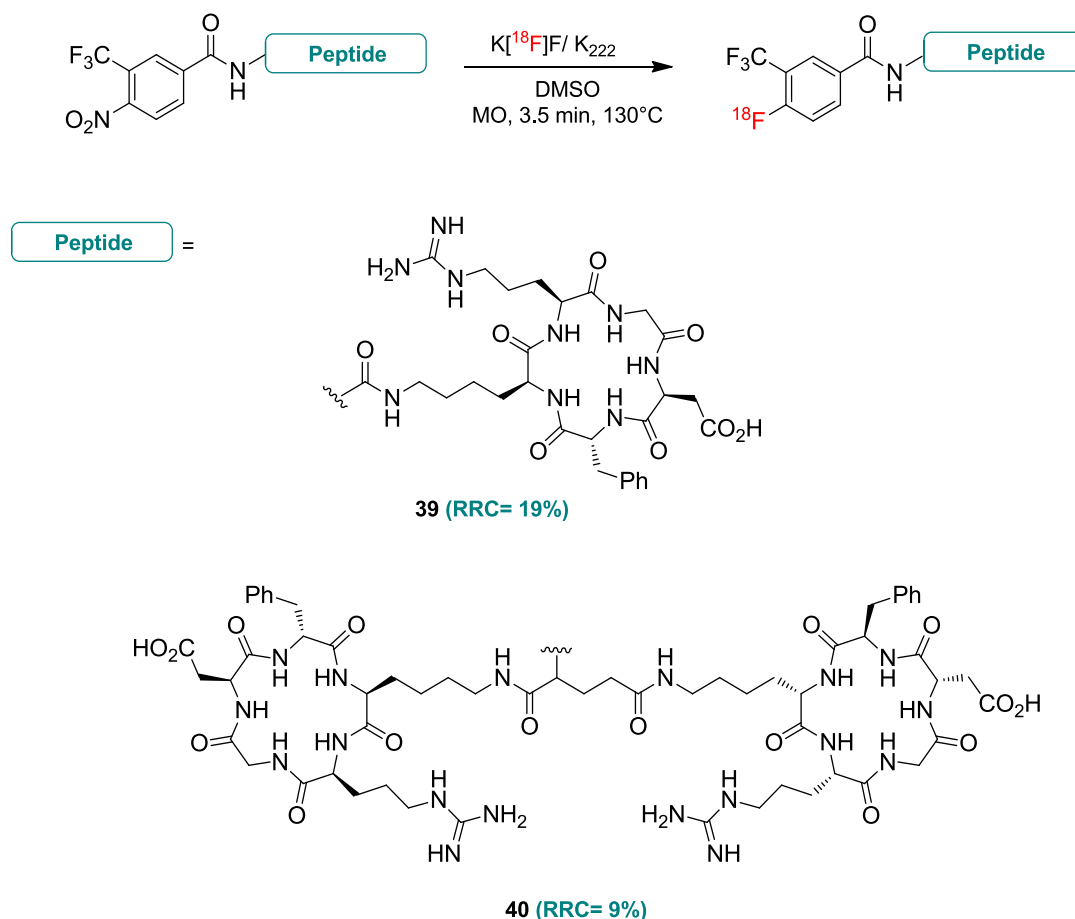
Schéma 16: Synthèse du [^{18}F]-FAMB par substitution nucléophile aliphatique

En série aromatique, la fluoration repose sur la substitution d'un bon groupement partant (trialkylammonium, triflate...) sur un cycle désactivé par des substituants électroattracteurs tels que nitrile, CF_3 ... Cette approche a été appliquée à des analogues de la bombésine en utilisant le triméthylammonium comme groupement partant. Les dérivés fluorés correspondants sont obtenus avec des rendements radiochimiques corrects, après seulement 15 minutes de réaction à 70°C.⁴⁹ Plus récemment, cette méthode de synthèse a été appliquée à des séquences peptidiques RGD (**39**, **40**), tripeptide Arg-Gly-Asp récepteurs aux intégrines. Cette fois, le groupement partant est un groupement nitro (**Schéma 17**).⁵⁰ Les fluorations nucléophiles sont réalisées en quelques minutes à 130°C par irradiation micro-ondes et les [^{18}F]-RGD **39** et **40** sont obtenus avec des rendements radiochimiques de 9 à 19% et de bonnes activités spécifiques ($\pm 79 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$).⁵⁰

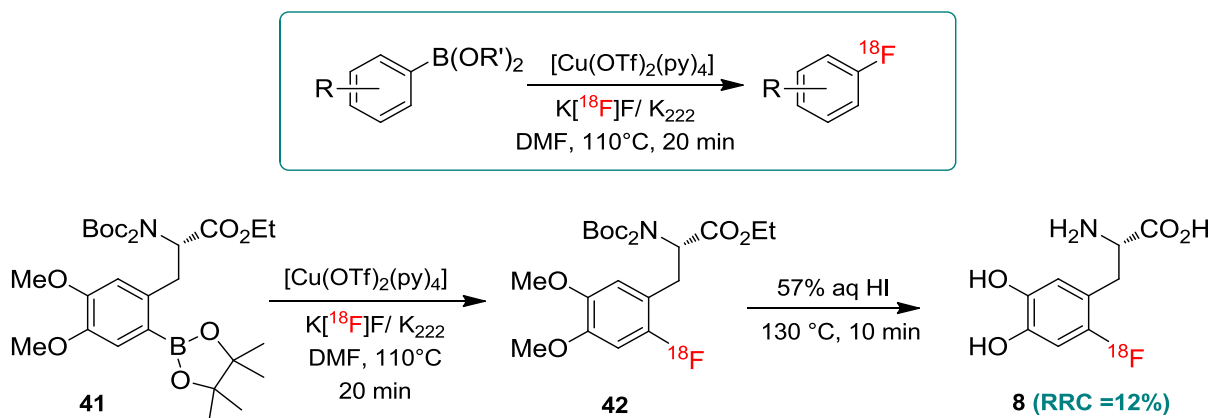
⁴⁸ McConathy, J.; Martarello, L.; Malveaux E. J.; Camp, V. M.; Simpson, N. E.; Simpson, C. P.; Bowers, G. D.; Zhang, Z.; Olson, J. J.; Goodman, M. M. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 447.

⁴⁹ Becaud, J.; Mu, L.; Karamkam, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Lehman, L.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A.; Smits, R.; Koksche, B. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 2254.

⁵⁰ Jacobson, O.; Ma, Y.; Weiss, I. D.; Sun, X.; Niu, G.; Kiesewetter, D. O.; Chen, X. *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 422.

Schéma 17: [^{18}F]-fluoruration directe par substitution nucléophile aromatique

La fluoruration de noyaux aromatiques électroniquement enrichis a été récemment décrite par Gouverneur *et al.* en utilisant une catalyse par un complexe de cuivre. Le principe repose sur la substitution d'un groupement pinacol boronate par le fluor-18, en présence d'un complexe de cuivre commercial [$\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4$] comme cela est illustré sur le **Schéma 18**.⁵¹

Schéma 18: Fluoruration de la [^{18}F]-FDOPA «catalysée» par un complexe de cuivre

⁵¹ Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 7751.

La démonstration du potentiel de cette approche a été soulignée par la synthèse de la [^{18}F]-FDOPA, (*i.e.* II-2. La L-6- [^{18}F]fluoro-3,4-dihydroxyphénylalanine ([^{18}F]-FDOPA)) radiopharmaceutique largement utilisé en neurologie (**Schéma 18**). La fluoration est réalisée sur le précurseur boronaté et protégé **41** de la L-DOPA à 110°C en 20 minutes dans le DMF, suivi d'une déprotection en milieu acide à 130°C pour isoler la [^{18}F]-FDOPA avec 12% de rendement radiochimique.⁵¹ Une seconde méthode promouvant la fluoration en présence d'un complexe de cuivre, tel que $[(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{CuOTf}]$, utilise un sel mésitylaryl iodonium comme groupement partant. Cette approche donne des conversions HPLC correctes à bonnes (14 à 79%), une bonne sélectivité tout en utilisant des températures plutôt modérées (85°C).⁵²

Ces méthodes de [^{18}F]-fluoruration directe sont intéressantes pour le marquage de biomolécules en dernière étape. Toutefois, les conditions de réactions utilisées (température élevée, conditions basiques ou acides, solvants organiques polaires) pour obtenir des rendements radiochimiques corrects, peuvent dénaturer la molécule bioactive. Aussi, l'utilisation de telles conditions se prête certainement mieux au marquage de groupements prosthétiques qu'aux biomolécules elles-mêmes, et apparaît comme une alternative intéressante.

III-1-2. Stratégie de marquage par fluoruration indirecte

La [^{18}F]-fluoruration indirecte, basée sur l'utilisation de groupements prosthétiques, s'avère de loin la méthode la plus employée. Les groupements prosthétiques sont des molécules simples, composés, d'une part, d'un site réactif pour introduire le fluor-18 et, d'autre part, d'un groupe fonctionnel permettant un couplage ultérieur avec la biomolécule pour conduire au radiotraceur attendu (**Schéma 19**).

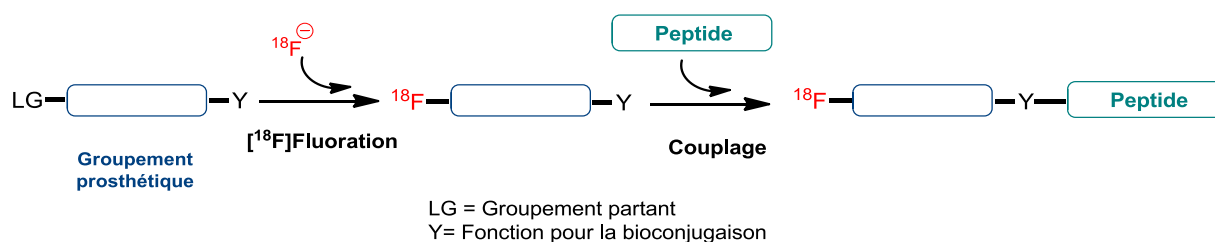


Schéma 19: Stratégie de marquage utilisant des groupements prosthétiques

Plusieurs types de groupements prosthétiques marqués par le fluor-18 ont été développés (**Figure 11**). Chacun d'entre eux possède des avantages et des inconvénients en termes de synthèse et de réactivité envers le peptide ciblé. Cependant, aucun protocole général n'existe, et les procédures de marquage doivent être adaptées cas par cas. La plupart du temps, les groupements prosthétiques sont développés afin de permettre le greffage à des fonctions amines, acides carboxyliques ou thiols des peptides ciblés.

⁵² Ichiishi, N.; Brooks, A. F.; Topczewski, J. J.; Rodnick, M. E.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3224.

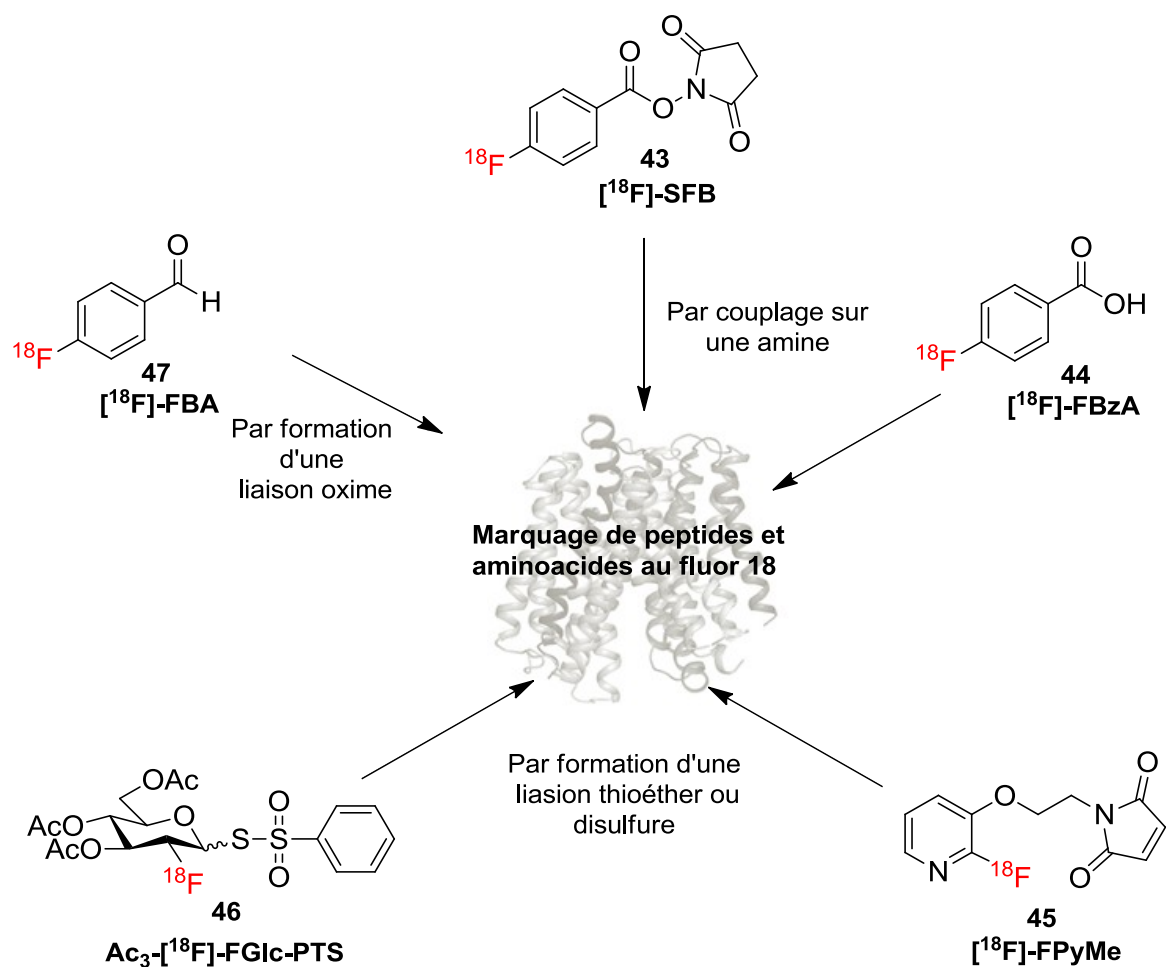


Figure 11: Groupements prosthétiques fluorés développés pour le marquage de peptides et d'acides aminés

Parmi tous les groupements prosthétiques fluorés rappelés ci-dessus, le *N*-succinimidyl-4-[^{18}F]-fluorobenzoate ([^{18}F]-SFB, **43**) est certainement le plus utilisé. Plusieurs dérivés de la bombésine (ou GRP pour Gastrin Releasing Peptide) ont ainsi été marqués par le [^{18}F]-SFB **43** dans des conditions douces (faiblement basique, 50°C) en 30 minutes. Les [^{18}F]-BBN sont alors isolés avec des rendements radiochimiques (24-30%) et des activités spécifiques correctes (35-40 GBq/ μmol).⁵³ Le groupement prosthétique **44** ([^{18}F]-FBzA) a également été utilisé mais dans le cas de la synthèse de [^{18}F]-fluoropeptides en phase solide. La procédure de marquage consiste alors à coupler [^{18}F]-FBzA **44** avec le peptide supporté **48** en utilisant l'HATU comme agent de couplage (**Schéma 20**). Après décrochage de la résine et purification par HPLC, les [^{18}F]-peptides **50** sont isolés avec de très bons rendements radiochimiques (>90%) et des activités spécifiques satisfaisantes de 20-25GBq/ μmol , en seulement 20 minutes.⁵⁴

⁵³ Richter, S.; Wuest, M.; Krieger, S. S.; Rogers, B. E.; Friebe, M.; Bergmann, R.; Wuest, F. *Nucl. Med. Biol.* **2013**, *40*, 1025.

⁵⁴ Sutcliffe-Goulden, J. L.; O'Doherty, M. J.; Marsden, P. K.; Hart, I. R.; Marshall, J. F.; Bansal, S. S. *Eur. J. Nucl. Med.* **2002**, *29*, 754.

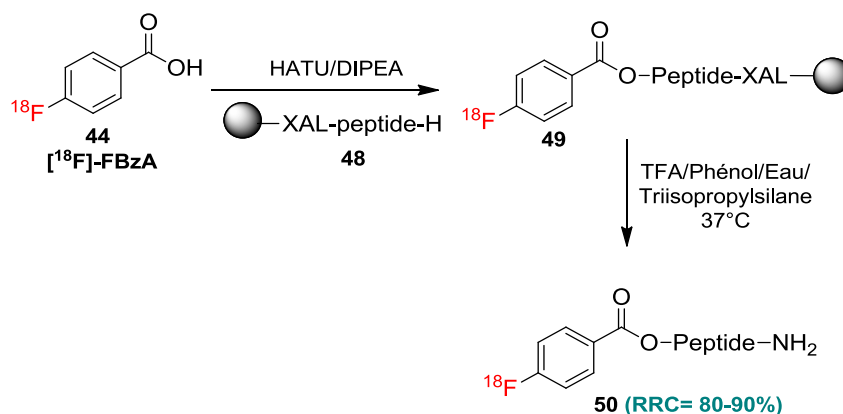


Schéma 20: Stratégie de marquage par le fluor-18 par synthèse peptidique en phase solide

D'un autre côté, une méthode simple et efficace de marquage consiste à former un éther d'oxime entre une fonction aldéhyde portée par le groupement prosthétique et une hydroxylamine portée par un peptide.⁵⁵ La radiosynthèse du [¹⁸F]-fluciclatide **52**, traceur en phase clinique pour la détection de lésions métastatiques du cancer du sein a été réalisée selon cette approche (**Schéma 21**). Le [¹⁸F]-FBA **47**, porteur de la fonction aldéhyde est conjugué au peptide **51** en solution tampon acétate d'ammonium (pH 4), à 70 °C en seulement 10 minutes, et le [¹⁸F]-fluciclatide est obtenu avec un rendement radiochimique de 23% et une activité spécifique pouvant atteindre 170 GBq/μmol.⁵⁶

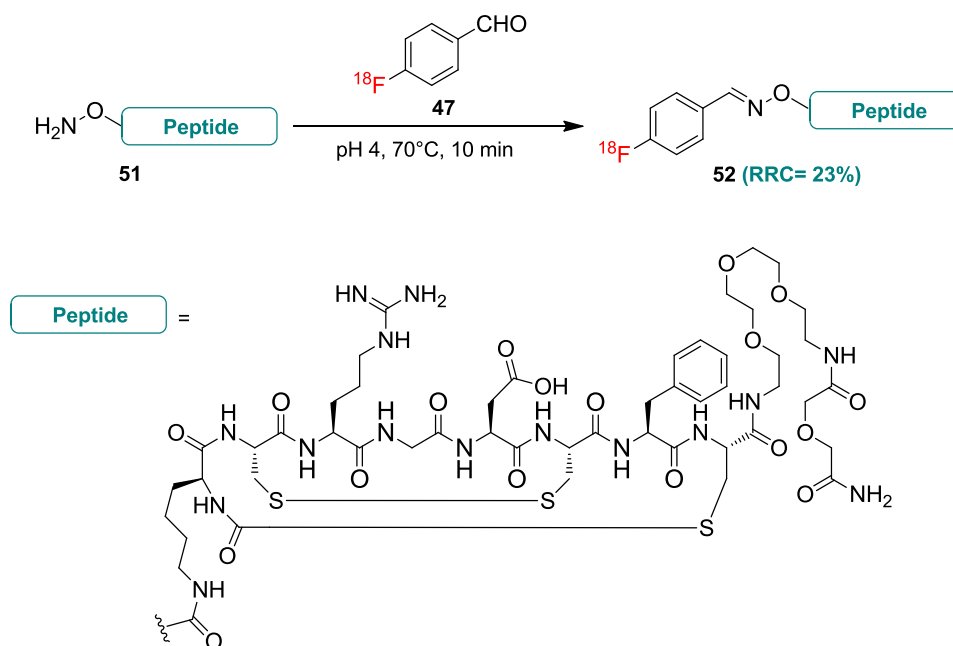


Schéma 21: [¹⁸F]-Fluoration par création d'une oxime

De même, les précurseurs contenant des fonctions [¹⁸F]-maléimides tels que le [¹⁸F]-FPyMe **45** sont également des groupements prosthétiques fluorés intéressants pour marquer des peptides ayant des fonctions thiols résiduelles. Les fonctions thiols libres (–SH)

⁵⁵ Li, X-G.; Haaparanta, M.; Solin, O. *J. Fluor. Chem.* **2012**, 143, 49.

⁵⁶ Glaser, M.; Morrison, M.; Solbakken, M.; Arukwe, J.; Karlsen, H.; Wiggen, U.; Champion, S.; Kindberg, G. M.; Cuthbertson, A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, 19, 951.

ne sont pas très communes dans les peptides et proviennent de la présence d'un résidu cystéine. Dans ce cas, le marquage repose sur une addition de Michael qui implique l'addition du thiol sur la double liaison du groupement maléimide avec création d'une liaison thioéther. L'équipe de Dollé a ainsi utilisé cette approche pour le marquage de différents peptides dans des conditions douces (pH 7-8, milieu aqueux à 90%, température ambiante - **Schéma 22**). Toutefois, la procédure totale de radiomarquage, incluant la préparation du [^{18}F]-FPyMe, la conjugaison sur le peptide et la purification finale demande plus de 2 heures.⁵⁷

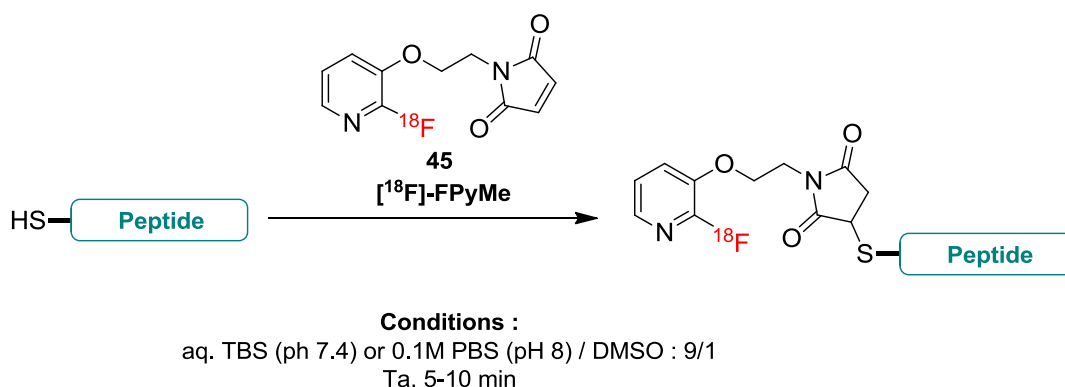


Schéma 22: [^{18}F]-Fluoration par création d'une liaison thioéther

Enfin, le 2-désoxy-2- ^{18}F -fluoro-1-thioglycopyranose ($\text{Ac}_3\text{-}^{18}\text{F}\text{-FGlc-PTS}$, **46**), préparé en trois étapes à partir du triflate de mannose **6** a été développé pour la glycosylation de biomolécules par formation d'un pont disulfure. Cette méthode chimiosélective a été appliquée pour le marquage de dérivés du RGD possédant une cystéine. Cependant, en dépit des conditions de réactions plutôt douces, le temps de synthèse globale reste long (1h30) et les peptides marqués sont obtenus avec des rendements radiochimiques faibles ($\pm 13\%$).⁵⁸

Depuis ces dernières années, l'utilité de la «**Click Chemistry**», et plus particulièrement par cycloaddition de Huisgen d'azoture-alcyne pour la préparation de radiopharmaceutiques a fait l'objet de nombreux développements. Le grand succès de cette méthode de couplage a permis la mise au point d'une grande variété de [^{18}F]-groupements prosthétiques de type alcyne **53-54** ou azoture **55-58** (**Figure 12**).

⁵⁷ de Bruin, B.; Kuhnast, B.; Hinnen, F.; Yaouancq, L.; Amessou, M.; Johannes, L.; Samson, A.; Boisgard, R.; Tavitian, B.; Dollé, F. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 406.

⁵⁸ Prante, O.; Einsiedel, J.; Haubner, R.; Gmeiner, P.; Wester, H-J.; Kuwert, T.; Maschauer, S. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 254.

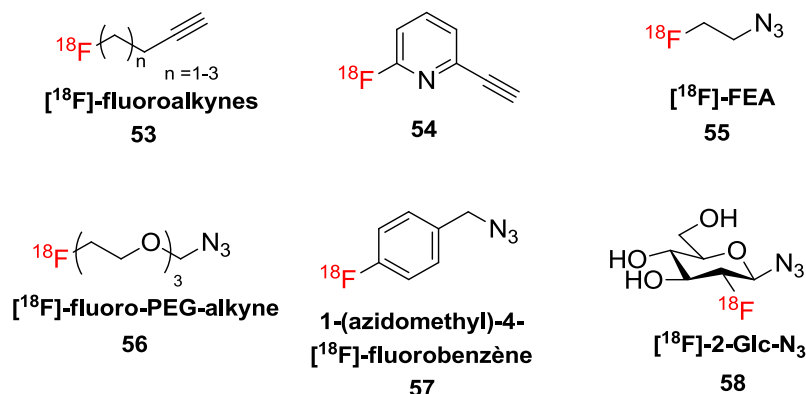
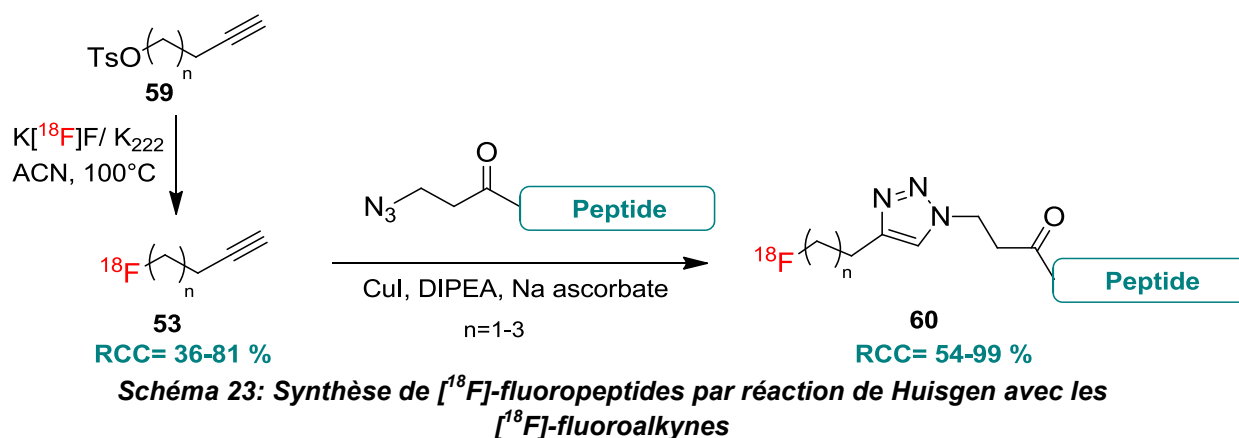


Figure 12: Groupements prosthétiques fluorés pour le marquage par réaction de Huisgen

En 2006, Marik et Sutcliffe ont ainsi décrit la préparation rapide (30 minutes) à température ambiante de $[^{18}\text{F}]$ -fluoropeptides par réaction de cycloaddition avec les $[^{18}\text{F}]$ -fluoroalkynes **53**. Ceux-ci sont préalablement synthétisés par réaction des tosylates d'alkynes **59** avec le complexe de $\text{K}[^{18}\text{F}]\text{F}/\text{K}_{222}$ puis co-distillés avec de l'acétonitrile (**Schéma 23**). L'étape de conjugaison est réalisée en 10 minutes, à température ambiante, en présence de CuI et d'ascorbate de sodium pour donner les fluoropeptides **60** avec de bons rendements radiochimiques et des activités spécifiques supérieures à $35 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$.⁵⁹



Plus récemment, l'équipe de Lewis a développé la 6- $[^{18}\text{F}]$ -fluoro-2-éthynylpyridine **54** pour le marquage d'un peptide de 37 acides aminés (pHLIP) considéré comme « volumineux ». Le dérivé **54** est obtenu par fluoration nucléophile du précurseur bromé correspondant en seulement 10 minutes.⁶⁰

Un exemple intéressant de marquage d'acides aminés d'un dérivé alcyne de la glycine a été décrit par McConathy *et al.* en utilisant le $[^{18}\text{F}]$ -FEA **55** comme $[^{18}\text{F}]$ -groupement prosthétique (**Schéma 24**). Les deux énantiomères sont isolés avec de bons rendements radiochimiques (57% pour le (*R*)-**65** et 51% pour le (*S*)-**66**) et des activités spécifiques

⁵⁹ Marik, J.; Sutcliffe, J. L. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 6681.

⁶⁰ Daumar, P.; Wanger-Baumann, C. A.; Pillarsetty, N.; Fabrizio, L.; Carlin, S. D.; Andreev, O. A.; Reshetnyak, Y. K.; Lewis *Bioconjugate Chem.* **2012**, 23, 1557.

estimées supérieures à 11 GBq/μmol, malgré un temps de synthèse relativement long de 2h30.⁶¹

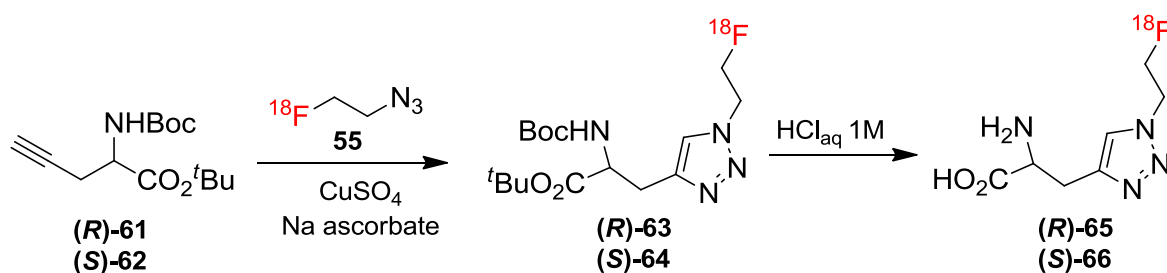


Schéma 24: Radiomarquage d'acides aminés par «Click Chemistry» de type Huisgen

Récemment, le 2-désoxy-2-[¹⁸F]-fluoro-1-azidoglycopyranose ([¹⁸F]-2-Glc-N₃, **58**), dérivé du [¹⁸F]-FDG, a également été utilisé pour le marquage de glyco-peptides. La conjugaison par cycloaddition de Huisgen est accomplie en présence de CuSO₄ et d'ascorbate de sodium à 60°C, et conduit aux peptides souhaités avec des rendements radiochimiques compris entre 70 et 80% et des activités spécifiques pouvant atteindre 220 GBq/μmol en 75 minutes.⁶²

Une méthode de marquage (alcyne cyclique contraint) par cycloaddition de Huisgen sans catalyse au cuivre a également été adaptée pour des dérivés de la bombésine, à partir des précurseurs **56** et **57** (Schéma 25). Ces réactions sont réalisées dans le DMF, à température ambiante, en seulement 15 minutes, et les dérivés de la bombésine sont obtenus avec des rendements radiochimiques corrects (19-37%).⁶³

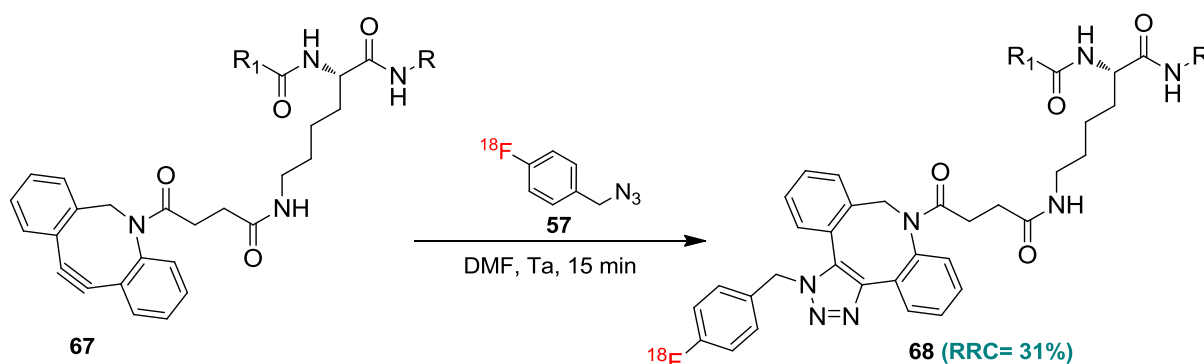


Schéma 25: Synthèse du dérivé de la bombésine 68 par «Click Chemistry» de type Huisgen sans catalyse par le cuivre

Pour résumer, le marquage de biomolécules *via* les groupements prosthétiques permet en effet, l'utilisation de conditions plus douces et une nette amélioration des rendements radiochimiques. Néanmoins, cette méthodologie rallonge le temps total de

⁶¹ McConathy, J.; Zhou, D.; Shockley, S. E.; Jones, L. A.; Griffin, E. A.; Lee, H.; Adams, S. J.; Mach, R. H. *Mol. Imaging* **2010**, 9, 329.

⁶² Maschauer, S.; Einsiedel, J.; Haubner, R.; Hocke, C.; Ocker, M.; Hübner, H.; Kuwert, T.; Gmeiner, P.; Prante, O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 976.

⁶³ Campbell-Verduyn, L. S.; Mirfeizi, L.; Schoonen, A. K.; Dierckx, R. A.; Elsinga, P. H.; Feringa, B. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 11117.

synthèse et nécessite généralement la purification des intermédiaires, ce qui n'est pas sans inconvénient pour un développement sur automate. D'autres méthodes de marquage moins conventionnelles par le fluor-18 ont ainsi été étudiées.

III-2. Marquage non conventionnel *via* des hétéroatomes

Plusieurs éléments autres que le carbone se lient fortement au fluor avec une haute enthalpie de liaison. Récemment, ces éléments fluorophiles, principalement l'aluminium, le silicium et le bore ont fait l'objet d'étude pour le développement de nouveaux radiotraceurs TEP.

III-2-1. Par création d'une liaison Al-¹⁸F

L'équipe de McBride *et al.* a décrit une stratégie de radiomarquage par le fluor-18 de peptides thermostables (octréotide, bombésine...), par formation d'un complexe (Al-¹⁸F)²⁺. Cette méthode repose sur une approche similaire à celle employée pour le marquage par coordination, et une évaluation de divers agents chélatants a permis de montrer que le NOTA est le ligand qui apporte la meilleure stabilité *in vivo* aux complexes d'aluminium-fluor-18 (**Schéma 26**).^{64,65}

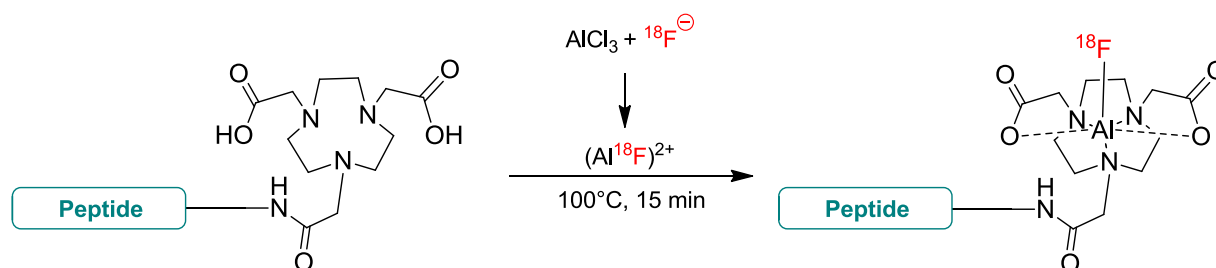


Schéma 26: Radiomarquage direct de peptide par liaison Al-¹⁸F

Dans ce cas, la fluoruration repose sur la formation d'un complexe (Al-¹⁸F)²⁺ qui est obtenu par [¹⁸F]-fluoruration directe d'une solution de trichlorure d'aluminium. Le marquage est ensuite réalisé sur la biomolécule, où l'agent chélatant a préalablement été fixé, en solution tampon acétate de sodium (pH 4), à 100°C durant 15 minutes (**Schéma 26**). Ce type de marquage est illustré par l'exemple d'un analogue de la bombésine **69**, connue pour s'accumuler spécifiquement dans les récepteurs gastro-intestinaux (GRPR), surexprimés dans certains types de cancers (**Figure 13**).⁶⁶

⁶⁴ McBride, W. J.; Sharkey, R. M.; Karacay, H.; D'Souza, C. A.; Rossi, E. A.; Laverman, P.; Chang, C.-H.; Boerman, O. C.; Goldenberg, D. M. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 991.

⁶⁵ Laverman, P.; McBride, W. J.; Sharkey, R. M.; Goldenberg, D. M.; Boerman, O. C. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57*, 219.

⁶⁶ Dijkgraaf, I.; Franssen, G. M.; McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Laverman, P.; Smith, C. J.; Goldenberg, D. M.; Oyen, W. J. G.; Boerman, O. C. *J. Nucl. Med.* **2012**, *53*, 947.

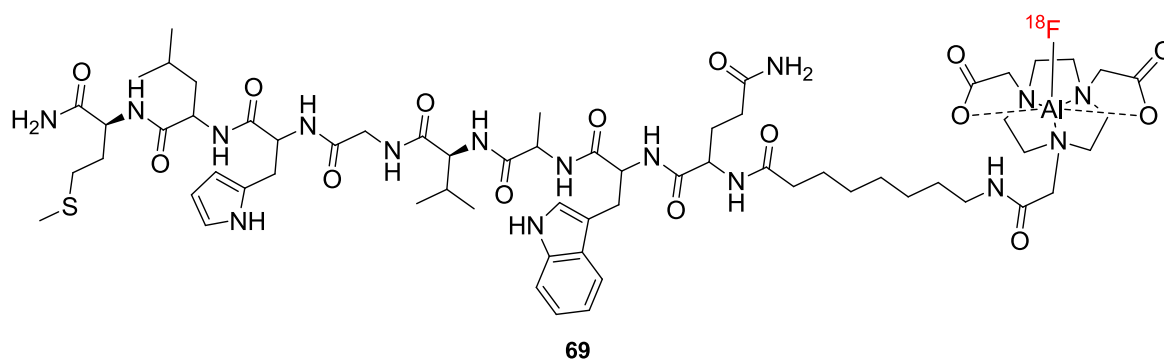


Figure 13: Marquage d'un analogue de la bombésine par formation d'un complexe (Al- ^{18}F) $^{2+}$

Cet analogue **69** de la bombésine est marqué rapidement en 45 minutes avec un rendement radiochimique compris entre 50-90% et une activité spécifique moyenne de 10 GBq/ μmol .⁶⁶ Néanmoins, la formation du complexe d'aluminium-fluor-18 requiert des températures élevées (100°C) qui ne sont pas nécessairement appropriées à tous les types de peptides.

Toutefois, cette méthode de marquage peut être adaptée à des biomolécules thermosensibles, par formation du complexe d'aluminium-fluor-18 avant le greffage. Ainsi, le radiomarquage du ligand NODA-MPAEM **70** directement conjugable à des protéines est réalisé en 20 minutes, à 106°C en milieu faiblement acide (pH 4) pour donner le groupement prosthétique [^{18}F]-**70** avec 94% de rendement radiochimique (**Schéma 27**). Des fragments d'anticorps ont ensuite été marqués avec le [^{18}F]-AIF-NODA-MPAEM, par réaction thiol-maleimide avec des rendements radiochimiques globaux de 49 à 66%.⁶⁷

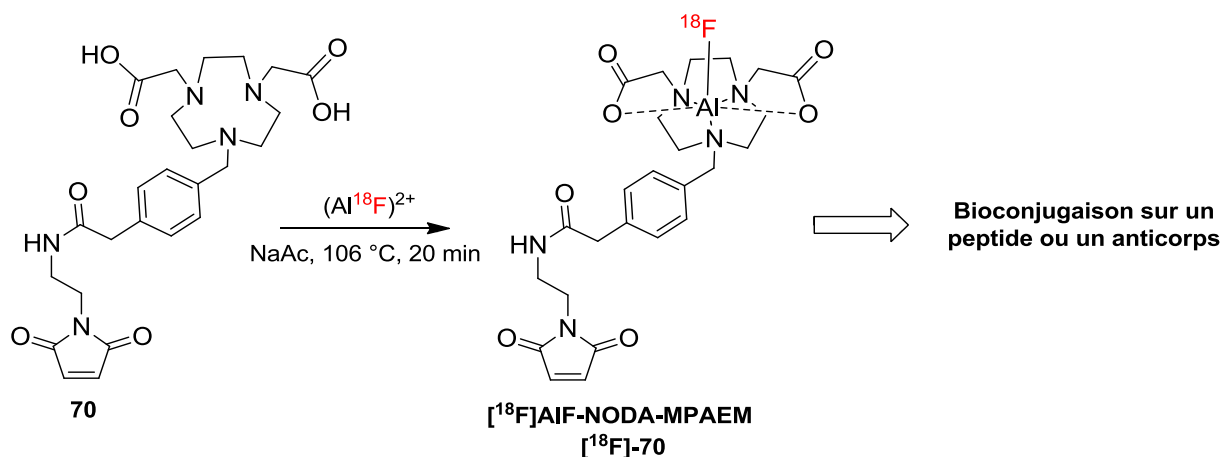


Schéma 27: Radiosynthèse du groupement prosthétique [^{18}F]-70

L'utilisation des complexes [^{18}F]-AIF-NOTA ou [^{18}F]-AIF-NODA-MPAEM pour le marquage constitue une alternative prometteuse, mais qui présente l'inconvénient d'avoir à greffer sur la biomolécule, un groupement prosthétique relativement encombrant qui peut en faire perdre les propriétés de reconnaissance du peptide pour le récepteur cible.

⁶⁷ a) McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Sharkey, R. M.; Goldenberg, D. M. *Appl. Radiat. Isot.* **2012**, 70, 200. b) Lütje, S.; Franssen, G. M.; Sharkey, R. M.; Laverman, P.; Rossi, E. A.; Goldenberg, D. M.; Oyen, W. J. G.; Boerman, O. C.; McBride, W. J. *Bioconjugate Chem.* **2014**, 25, 335.

III-2-2. Par création d'une liaison Si-¹⁸F

Le silicium présente une haute affinité avec le fluor (Si-F= 570 kJ.mol⁻¹), et cette propriété a été utilisée pour le marquage de biomolécules par le fluor-18.

Sa première application comme radiotraceur TEP remonte à 1985, où Rosenthal *et al.* ont marqué le chlorure de triméthylsilane avec du fluor-18, et isolé le dérivé [¹⁸F]-Me₃SiF avec 65% de rendement radiochimique. Toutefois, l'évaluation *in vivo* a révélé une hydrolyse rapide du [¹⁸F]-fluorosilane conduisant à une radioactivité élevée dans les os, ce qui limite ainsi son intérêt en imagerie.⁶⁸

En 2005, Perrin *et al.* ont reporté le marquage en phase aqueuse d'un alkyltriéthoxysilane couplé à la biotine avec formation d'un [¹⁸F]-alkyltetrafluorosilane **72**, par réaction d'un mélange HF/KHF₂ (**Schéma 28**). Le marquage est efficace (proche de 100 %), grâce à l'utilisation de bons groupements partants (e.g. éthoxy), mais la biotine fluorée formée est modérément stable en milieu aqueux.⁶⁹

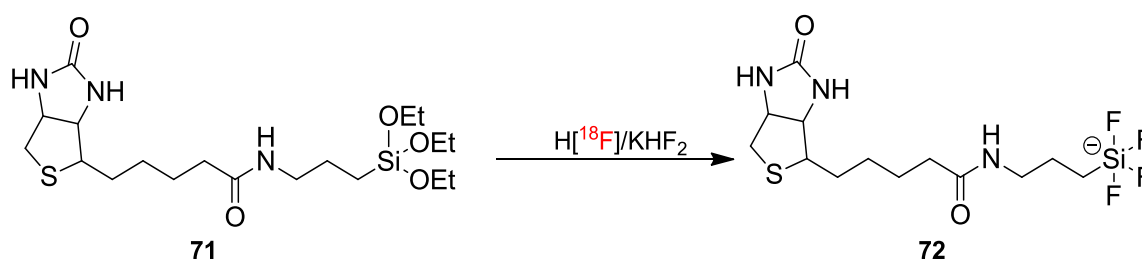


Schéma 28: Marquage de la biotine par formation d'un [¹⁸F]-alkyltetrafluorosilane

L'essor de cette stratégie de marquage est venu des études de stabilité qui ont été menées sur différents [¹⁸F]-fluoroarylsilanes. Ainsi, l'équipe de Schirmacher *et al.* a montré que la liaison Si-F peut être stabilisée contre l'hydrolyse par la présence de groupements encombrants (e.g. *tert*-butyl) sur l'atome de silicium.⁷⁰

Deux méthodes de marquage par les fluorosilanes sont à distinguer. La première, ou SiFA (Silicon-Fluoride Acceptor) se base sur l'échange isotopique, réaction où l'atome de fluor-19 du [¹⁹F]-fluorosilane est substitué par son isotope [¹⁸F] sans modification de la molécule originale. L'équipe de Schirmacher *et al.* a ainsi décrit en 2006, le radiomarquage du précurseur [¹⁹F]-SiFA-Tyr³-octréotide par échange isotopique ¹⁸F-¹⁹F selon deux conditions de réaction: soit avec K[¹⁸F]F/K₂₂₂ dans l'acétonitrile pendant 15 minutes à température ambiante, soit en utilisant le fluor-18 sous sa forme non complexée dans un mélange eau/acétonitrile à 95°C pendant 30 minutes. Ces deux conditions de réaction permettent d'obtenir d'excellents rendements radiochimiques de 70 à 97% (**Schéma 29**).⁷⁰

⁶⁸ Rosenthal, M. S.; Bosch, A. L.; Nickles, R. J.; Gatley, S. J. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1985**, 36, 318.

⁶⁹ Ting, R.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13094.

⁷⁰ Schirmacher, R.; Bradtmöller, G.; Schirmacher, E.; Thews, O.; Tillmanns, J.; Siessmeier, T.; Buchholz, H. G.; Bartenstein, P.; Wängler, B.; Niemeyer, C. M.; Jurkskat, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 6047.

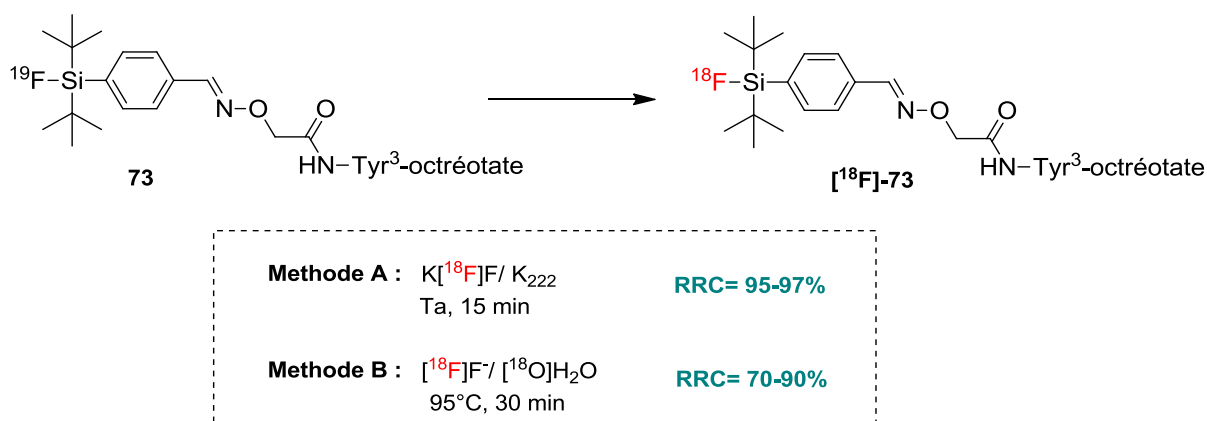


Schéma 29: $[^{18}\text{F}]$ -fluoration par échange isotopique de l'octréotate en une étape

Néanmoins, dans ces conditions, un large excès de l'espèce non-radioactive **73** est présente dans le milieu, ce qui donne de faibles activités spécifiques (3-5 GBq/ μmol).⁷⁰ Une variante de cette méthode en deux étapes, mise au point par la même équipe, permet le marquage de peptide avec une activité spécifique élevée (225-680 GBq/ μmol). Ainsi, le marquage du groupement prosthétique *p*-(di-*tert*-butylfluorsilyl)benzaldehyde **74** par le fluor-18 est fait par échange isotopique, suivi de la conjugaison avec le Tyr³-octréotate par formation d'une oxime (**Schéma 30**). L'intérêt de cette approche réside dans le fait qu'aucune purification n'est réalisée sur l'aldéhyde fluorosilylé $[^{18}\text{F}]$ -**74** car le marquage est sélectif et n'entraîne pas la formation de sous-produits. Cette méthode de marquage a également été appliquée à d'autres peptides ciblant des processus cancéreux.⁷¹

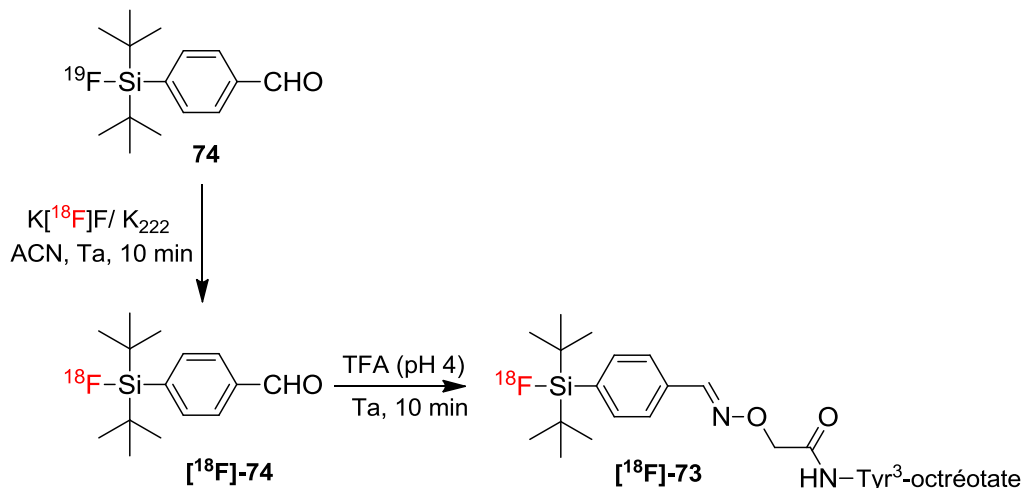


Schéma 30: $[^{18}\text{F}]$ -fluoration par échange isotopique de l'octréotate en deux étapes

La seconde, rapportée par Ametamey *et al.* en 2008, a été appliquée à des analogues de la bombésine et repose sur la réaction du fluor-18 avec des silanes ($\text{Y} = \text{H}$) ou silanols ($\text{Y} = \text{OH}$) (**Schéma 31**). Une seule étape est nécessaire pour le radiomarquage, et

⁷¹ Schirrmacher, E.; Wängler, B.; Cypriak, M.; Bradtmöller, G.; Schäfer, M.; Eisenhut, M.; Jurkschat, K.; Schirrmacher, R. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2085.

les dérivés [^{18}F]-**73** sont isolés avec des rendements radiochimiques compris entre 35 et 85%.⁷²

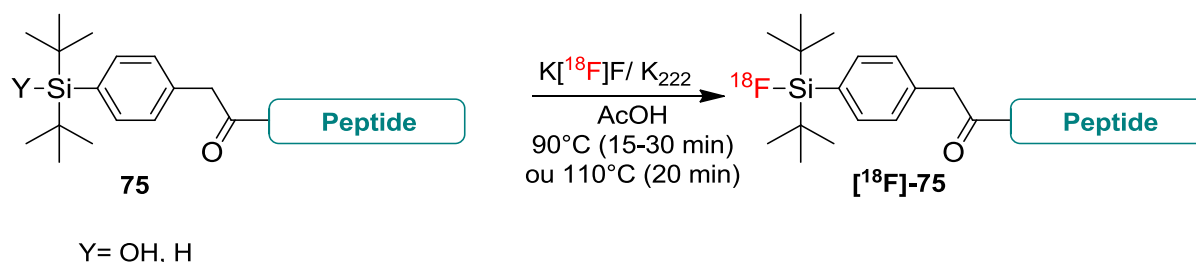


Schéma 31: Stratégie de marquage par substitution de silane ou silanol

Néanmoins, les premières études *in vitro* et *in vivo* ont montré que la présence des groupements *t*-butyl, qui permet de stabiliser les [^{18}F]-fluorosilanes, n'est pas sans inconvénient. En effet, la haute lipophilie ainsi conférée aux traceurs peptidiques affecte leurs biodistributions (forte accumulation dans le foie et la rate et faible accumulation dans la tumeur).⁷² Afin de contourner ce problème, Schirmacher et *al.* ont ainsi développé une nouvelle génération de peptide-silylé, où des aminoacides porteurs de groupements hydrophiles (noté Aux) ont été intégrés (**Figure 14**). La lipophilie du radiotraceur se trouve ainsi diminuée et n'affecte aucunement le marquage qui est réalisé par voie isotopique avec des rendements radiochimiques compris entre 41 et 62% et des activités spécifiques atteignant 60 GBq/ μmol .⁷³

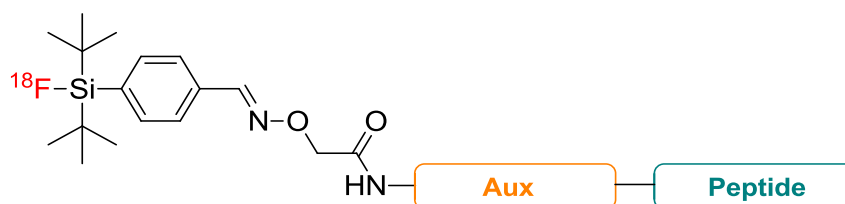


Figure 14: Diminution de la lipophilie des [^{18}F]-peptides-silylés par greffage d'un lien hydrophile «aux»

III-2-3. Par création de liaisons B- ^{18}F

La liaison covalente B-F est une liaison thermodynamiquement très stable ($> 730 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Depuis maintenant plusieurs décennies, les aryltrifluoroborates ont reçu une attention considérable dans les réactions de couplage de type Suzuki-Miyaura,⁷⁴ et récemment, ceux-ci ont été étudiés pour le développement de [^{18}F]-trifluoroborates comme

⁷² Höhne, A.; Mu, L.; Honer, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Klar, U.; Voigtmann, U.; Cyr, J. E.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, 19, 1871.

⁷³ a) Wängler, C.; Niedermoser, S.; Chin, J.; Orchowski, K.; Schirmacher, E.; Jurkschat, K.; Iovkova-Berends, L.; Kostikov, A. P.; Schirmacher, R.; Wängler, B. *Nature Protocols* **2012**, 7, 1946. b) Lindner, S.; Michler, C.; Leidner, S.; Rensch, C.; Wängler, C.; Schirmacher, R.; Bartenstein, P.; Wängler, B. *Bioconjugate Chem.* **2014**, 25, 738.

⁷⁴ Molander, G. A.; Biolatto, B. *Org. Lett.* **2002**, 4, 1867.

agents d'imagerie TEP. Cette nouvelle méthode a été démontrée par le succès du radiomarquage de la biotine, réalisé en 2005 par Ting *et al.*⁶⁹ Néanmoins, les premières études *in vivo* ont réellement débuté en 2008, après optimisation de la stabilité des trifluoroborates en milieux aqueux. Une discussion plus approfondie sur la stabilité de ces espèces sera détaillée dans le *Chapitre 2 : Sels de phosphoniums o-trifluoroborates: Préparation et étude de stabilité.*

La première stratégie de marquage par liaison B-F consiste à conjuguer un peptide à un groupement prosthétique boronate, puis à marquer celui-ci par des ions [¹⁸F]-fluorures, par formation du [¹⁸F]-trifluoroborate correspondant (**Schéma 32**). Ce radiomarqueur est obtenu par mélange de KHF₂ dit «froid» (non radioactif) avec du fluor-18 produit au moyen d'un cyclotron.

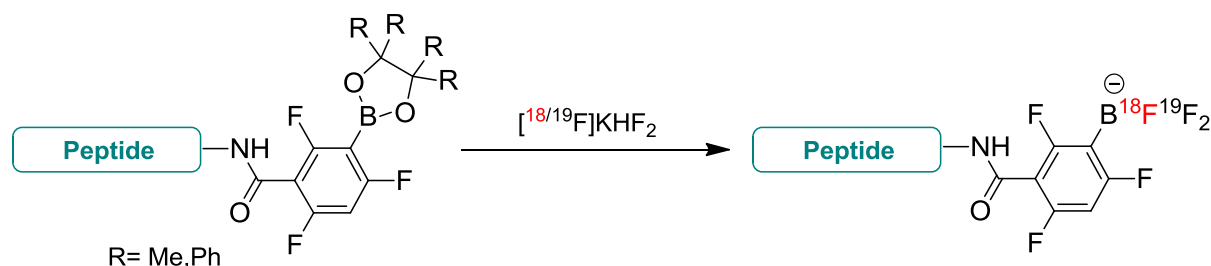


Schéma 32: Stratégie de marquage par formation de trifluoroborates

L'équipe de Perrin *et al.* a été la première à démontrer l'intérêt de cette méthode de marquage pour l'imagerie, en l'appliquant à des peptides,⁷⁵ et plus particulièrement, au Marimastate, peptide qui présente la caractéristique d'inhiber spécifiquement les cancers associés à la surexpression de métalloprotéases. Ce peptide a été radiomarké à température ambiante, en milieu aqueux contenant les additives suivants : KHF₂, acide ascorbique, KI et du formiate d'ammonium et acide (pH 1-2 par ajout d'HCl) en une heure par [¹⁸F]-fluoruration directe d'un groupement prosthétique boronate (**Figure 15**). Malgré une faible activité spécifique (3.7 GBq/μmol), le [¹⁸F]-Marimastate-aryltrifluoroborate **76** présente une bonne spécificité *in vivo* pour la tumeur.⁷⁶

⁷⁵ a) Ting, R.; Harwig, C. W.; auf dem Keller, U.; McCormick, S.; Austin, P.; Overall, C. M.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12045. b) Li, Y.; Guo, J.; Tang, S.; Lang, L.; Chen, X.; Perrin, D. M. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *3*, 44. c) Li, Y.; Liu, Z.; Lozada, J.; Wong, M. Q.; Lin, K-S.; Perrin, D. M. *Nucl. Med. Biol.* **2013**, *40*, 959.

⁷⁶ a) auf dem Keller, U.; Bellac, C. L.; Li, Y.; Lou, Y.; Lange, P. F.; Ting, R.; Harwig, C.; Kappelhoff, R.; Dedhar, S.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Bénard, F.; Perrin, D. M.; Overall, C. M. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 7562. b) Li, Y.; Ting, R.; Harwig, C.; auf dem Keller, U.; Bellac, C. L.; Lange, P. F.; Inkster, J. A. H.; Schaffer, P.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Overall, C. M.; Perrin, D. M. *Med. Chem. Commun.* **2011**, *2*, 942.

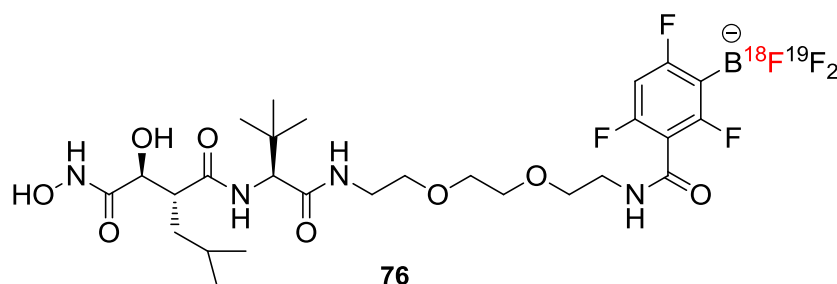


Figure 15: Marquage du Marimastate par formation d'un groupement [^{18}F]-trifluoroborate

Smith *et al.* ont réalisé le marquage de la biotine, par cette approche en utilisant un lien polyéthylène glycol pour greffer le groupement prosthétique boronate et augmenter la solubilité dans l'eau tout en éloignant suffisamment la biomolécule. La biotine boronate est alors marquée par les ions [^{18}F]-fluorures en une heure, à température ambiante et en présence d'acide acétique glacial. Après purification sur cartouche de silice, la [^{18}F]-BA-PEG-biotine **77** est isolée avec un bon rendement radiochimique de 65% (Figure 16).⁷⁷

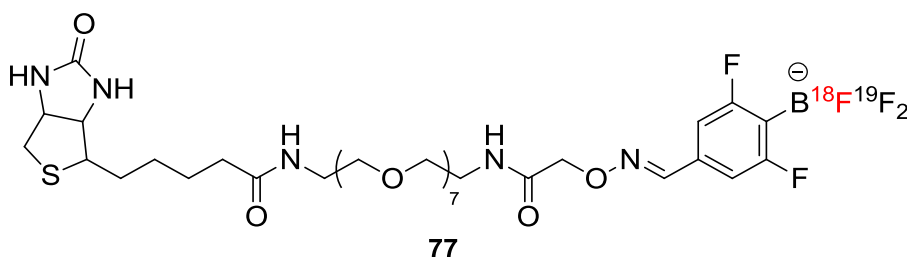


Figure 16: Marquage de la biotine par formation d'un groupement [^{18}F]-trifluoroborate

D'un autre côté, le groupe de Perrin a proposé une nouvelle approche de type «one pot», utilisant un alkyne borimide **78** comme groupement prosthétique pour le marquage indirect de biomolécules. La conjugaison de l'alkyne [^{18}F]-trifluoroborate **79** avec un peptide est alors réalisée par cycloaddition de Huisgen, «catalysée» par un complexe de cuivre (Schéma 33).^{75b}

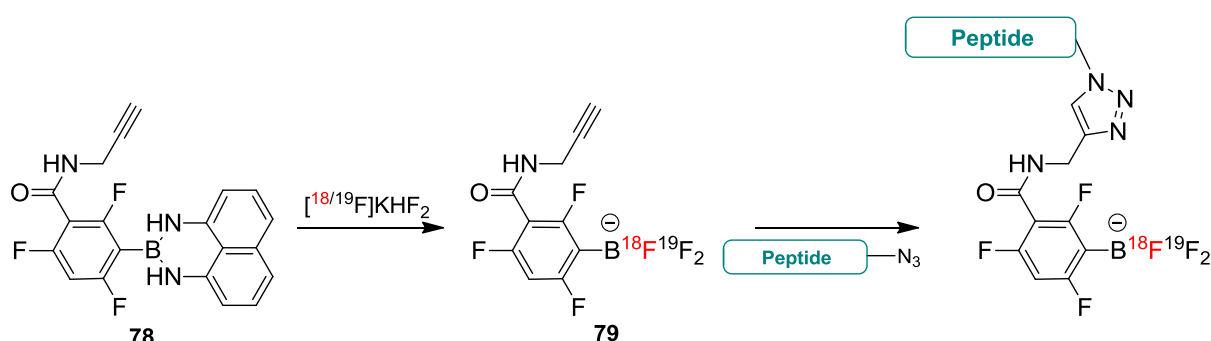


Schéma 33: Approche «one pot» à partir de l'alkyne borimide 79

L'intérêt de cette approche est illustré par le marquage d'un analogue de la bombésine (Figure 17). Tout d'abord, le dérivé **78** est mélangé à une solution concentrée de fluor-18 aqueux avec du KHF_2 , en milieu acide (pH 2). Après 15 minutes de réaction à 30°C,

⁷⁷ Smith, T. A. D.; Simpson, M.; Cheyne, R.; Trembleau, L. *App. Rad. Isot.* **2011**, 69, 1395.

le mélange est neutralisé par NH_4OH (5%) en solution aqueuse d'éthanol (50%), puis le précurseur **79** est séché. Une solution d'ascorbate de sodium, de CuSO_4 (0.2 M) et le peptide fonctionnalisé par un azide en position terminale sont alors ajoutés au précurseur marqué **79**, et réagissent pendant 25 minutes à température ambiante. Après neutralisation du milieu, l'analogue de la bombésine marqué **80** est purifiée par HPLC, puis isolée avec une bonne activité spécifique (37 GBq/ μmol) et un rendement radiochimique de 20%.⁷⁸

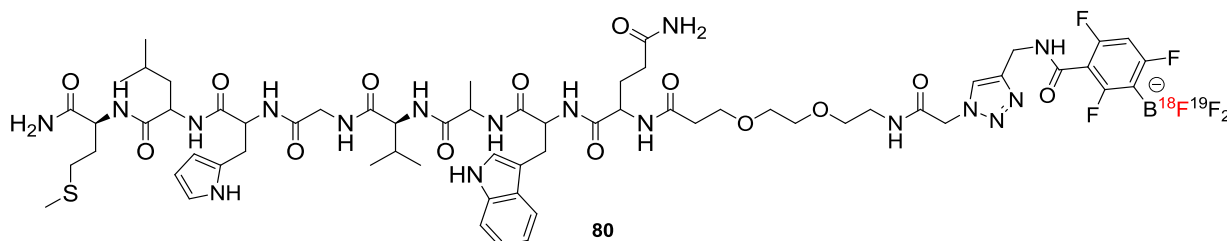


Figure 17: Analogue de la bombésine greffé à un groupement [^{18}F]-trifluoroborate par «Click Chemistry» de type Huisgen

Afin de diminuer le temps de réaction global pour minimiser l'influence de la décroissance radioactive, le marquage des [^{18}F]-aryltrifluoroborates ($[\text{F}^{18}\text{F}]\text{-ArBF}_3$) par échange isotopique a également été envisagé (**Schéma 34**).

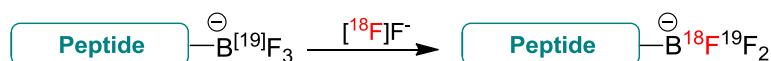


Schéma 34: Stratégie de marquage par échange isotopique

Ainsi, Perrin *et al.* ont décrit le marquage d'un cyclo-RGD par échange isotopique en moins de 20 minutes, à 45 °C et en milieu partiellement aqueux (DMF, eau, solution tampon HCl-pyridazine). Le cyclo-RGD **81** marqué (**Figure 18**) est alors purifié par HPLC pour éliminer le fluor-18 en excès, et est isolé avec un rendement radiochimique de 50% et une excellente activité spécifique estimée à 444 GBq/ μmol .⁷⁹

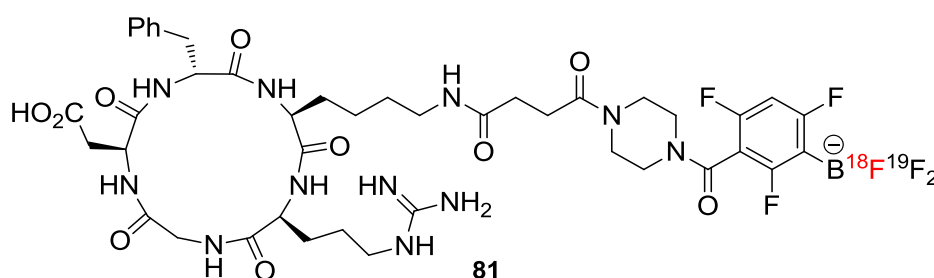


Figure 18: Marquage du cyclo-RGD par échange isotopique

D'autres travaux ont porté sur la conception de sondes moléculaires bimodales TEP/imagerie optique en associant un groupement [^{18}F]-aryltrifluoroborate et un fluorophore. Dans ce cas, la méthode de marquage repose sur l'introduction d'un fluor-18 au sein d'un

⁷⁸ Li, Y.; Liu, Z.; Harwig, C. W.; Pourghiasian, M.; Lau, J.; Lin, K-S.; Schaffer, P.; Bénard, F.; Perrin, D. M. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2013**, 1, 57.

⁷⁹ Liu, Z.; Li, Y.; Lozada, J.; Wong, M. Q.; Greene, J.; Lin, K-S.; Yapp, D.; Perrin, D. M. *Nucl. Med. Chem* **2013**, 40, 841.

dérivé BODIPY (*bore dipyrométhène*), bien connu pour ses propriétés en fluorescence. Ainsi, Weissleder et Mazitschek ont décrit le radiomarquage d'un BODIPY activé par un triflate **82** dans l'acétonitrile, à température ambiante en 1 minute avec une conversion de 67% pour un suivi bimodal (TEP/Optique) du Trastuzumab (**Schéma 35**).⁸⁰

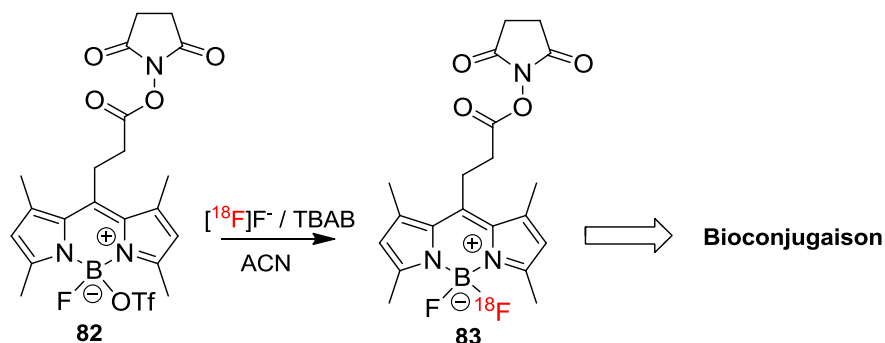


Schéma 35: Stratégie de marquage bimodal d'un BODIPY

Plus récemment, le marquage, d'un dérivé commercial de BODIPY fonctionnalisé par un ester succinimide, a été réalisé par échange isotopique direct (en 10 minutes à température ambiante en présence de l'acide de Lewis SnCl_4) avec une conversion de 79%, puis greffé à un cyclopeptide RGD (**Schéma 36**).⁸¹

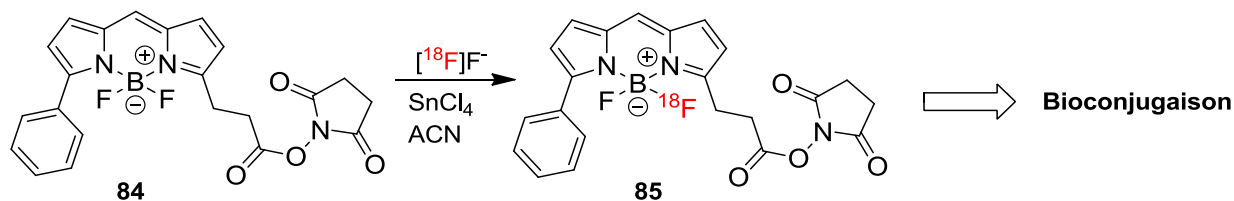


Schéma 36: Stratégie de marquage par échange isotopique

Pour résumer, la plupart des méthodes de marquage par le fluor-18 mentionnées dans les paragraphes précédents, utilise la formation conventionnelle d'une liaison $\text{C}-^{18}\text{F}$. Cependant, malgré de réels progrès, cette approche souffre de certaines limitations comme le fait d'obtenir de faibles rendements radiochimiques, de conditions de réaction souvent trop drastiques (température élevée, conditions basiques..) qui peuvent dénaturer les biomolécules, et de la difficulté de réaliser le radiomarquage au dernier stade de la synthèse. Ces contraintes sont particulièrement cruciales pour le marquage de biomolécules fragiles. Des approches non conventionnelles, utilisant des groupements borés, siliciés ou aluminiums sont apparues ces dernières années pour faciliter l'introduction du fluor-18. Ces différentes méthodes permettent d'obtenir des rendements radiochimiques et des activités spécifiques élevés, des temps de réactions relativement courts (< 45 minutes) qui démontrent leur très grand potentiel pour l'imagerie TEP.

⁸⁰ Hendricks, J. A.; Keliher, E. J.; Wan, D.; Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R.; Mazitschek, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4603.

⁸¹ Liu, S.; Lin, T.-P.; Li, D.; Leamer, L.; Shan, H.; Li, Z.; Gabbai, F. P.; Conti, P. S. *Theranostics* **2013**, *3*, 181.

IV. Sels de phosphonium appliqués à l'imagerie TEP

Les sels de phosphonium quaternaires sont largement utilisés en synthèse et catalyse organique (organocatalyse, liquides ioniques, réactif de Wittig), en biologie et en chimie thérapeutique (agent anti-cancéreux). Leur préparation se fait par quaternisation d'une phosphine avec un halogénure d'alkyle ou d'aryle,⁸² un alcool⁸² ou par addition nucléophile sur une oléfine activée ou un aryne.⁸³

Depuis quelques années, les sels de phosphonium sont également utilisés en imagerie médicale comme traceurs pour le marquage des mitochondries.⁸⁴ Ils peuvent également jouer le rôle d'intermédiaires de synthèse d'acides aminés modifiés porteurs de fonctions utiles pour le marquage.⁸⁵

IV-1. Application comme marqueurs des dysfonctionnements mitochondriaux

Depuis plus de vingt ans, le marquage de dérivés cationiques de type phosphonium a été appliqué au développement de radiotraceurs pour l'imagerie. En effet, ceux-ci sont connus pour pénétrer les membranes mitochondriales et venir s'accumuler dans les mitochondries en réponse à leur potentiel négatif, permettant ainsi la visualisation de dysfonctionnement mitochondrial *in vivo* (infarctus du myocarde, cancers..).⁸⁴ Il a également été montré que la diffusion de la charge positive sur l'ensemble lipophile des sels de phosphonium facilitait leurs passages à travers la membrane mitochondriale.

Madar et Ravert ont préparé des sels de phosphonium marqués par le fluor-18 tels que **86** et **87** pour étudier par imagerie TEP leurs cinétiques d'accumulation et de rétention *in vitro* et *in vivo*, ainsi que la distribution mitochondriale (**Figure 19**).⁸⁶ De loin, le phosphonium [¹⁸F]-FBnTP **87** a présenté des caractéristiques essentielles comme agent d'imagerie cardiaque (défluoration minimale, accumulation rapide et intense, distribution uniforme dans le myocarde, rapide élimination du sang). Néanmoins, l'élimination par voie hépatique du sel de phosphonium est aujourd'hui encore une limitation à son utilisation en clinique.⁸⁷

⁸² Hamanaka, N.; Kosuge, S.; Igochu, S. *Synlett* **1990**, 139.

⁸³ a) Rémond, E.; Tessier, A.; Leroux, F. R.; Bayardon, J.; Jugé, S. *Org. Lett.* **2010**, 12, 1568. b) Wittig, G.; Braun, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1971**, 751, 27.

⁸⁴ Zhou, Y.; Liu, S. *Bioconjugate Chem.* **2011**, 22, 1459.

⁸⁵ Rémond, E.; Bayardon, J.; Ondel-Eymin, M.-J.; Jugé, S. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 7579.

⁸⁶ Ravert, H. T.; Madar, I.; Dannals, R. F. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2004**, 47, 469.

⁸⁷ Madar, I.; Ravert, H. T.; Du, Y.; Hilton, J.; Volokh, L.; Dannals, R. F.; Frost, J. J.; Hare, J. M. *J. Nucl. Med.* **2006**, 47, 1359.

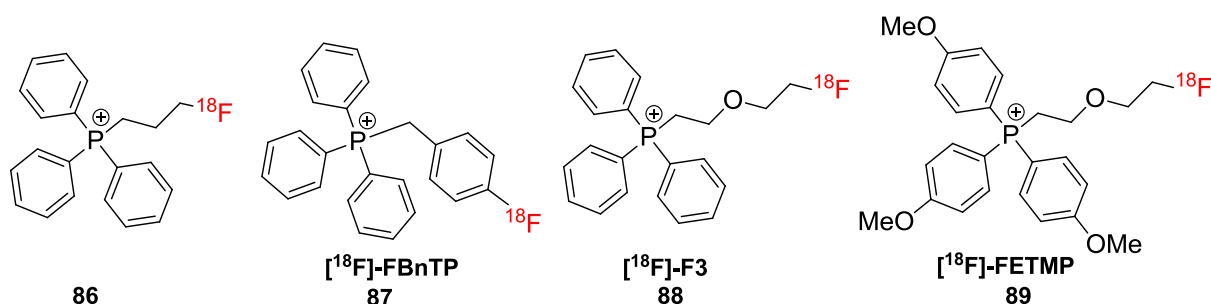


Figure 19: Sels de phosphonium marqués au fluor-18

L'élimination des radiotraceurs par le foie semble être dépendante de la balance lipophile/hydrophile des sels de phosphonium. Pour pallier à ce problème, l'équipe de Yu et Min a décrit différents dérivés phosphonium intégrant des parties plus hydrophiles (chaîne carbonée oxygénée) tels que le $[\text{18F}]\text{-F3}$ **88** ou le $[\text{18F}]\text{-FETMP}$ **89** (**Figure 19**). Ces alkyltriphenylphosphoniums ont montré une bonne sélectivité pour le myocarde avec une élimination rapide dans les autres organes, ce qui en fait des agents de contraste TEP très prometteurs pour l'imagerie cardiaque.⁸⁸

Très récemment, un sel de triphénylphosphonium a été utilisé comme vecteur mitochondrial pour le développement d'une sonde bimodale TEP/Imagerie optique. Ainsi, l'équipe de Josephson a synthétisé un TPP- $[\text{18F}]\text{-BODIPY}$ **92** par réaction de l'ammonium-phosphonium **90** avec le dérivé de NHS du $[\text{18F}]\text{-bodipy}$ **91** en milieu basique dans le DMSO (**Schéma 37**).⁸⁹

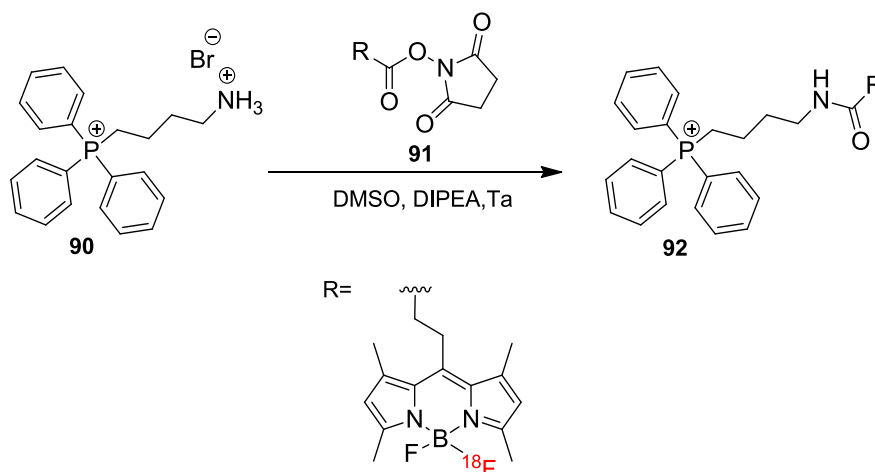


Schéma 37: Synthèse du TPP- $[\text{18F}]\text{-BODIPY}$ **92**

Les premières études par microscopie confocale et par imagerie TEP ont mis en évidence une bonne accumulation du dérivé **92** dans les mitochondries, offrant de nouvelles

⁸⁸ a) Kim, D-Y.; Kim, H-J.; Yu, K-H.; Min, J-J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 319. b) Kim, D-Y.; Kim, H-J.; Yu, K-H.; Min, J-J. *Nucl. Med. Biol.* **2012**, 39, 1093.

⁸⁹ Yuan, H.; Cho, H.; Chen, H. H.; Panafia, M.; Sonsnovik, D. E.; Josephson, L. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 10361.

perspectives pour le diagnostic des dysfonctionnements mitochondriaux, basées sur l'utilisation d'agents de contraste bimodaux.⁸⁹

IV-2. Application comme entité cationique dans des pinces à fluorures

La recherche de récepteurs qui puissent piéger sélectivement des anions potentiellement toxiques en milieu aqueux est d'un grand intérêt qui dépasse le domaine de l'imagerie. Depuis une dizaine d'années, une des solutions étudiées par Gabbaï *et al.* consiste à préparer des pinces acides de Lewis dérivées du bore telles que **93-95** (Figure 20) pour le piègeage des fluorures.⁹⁰ La haute fluorophilie de ces composés provient d'effets coopératifs impliquant les centres d'acides de Lewis qui interagissent avec le fluorure pour former une pince chélatante.^{91, 92}

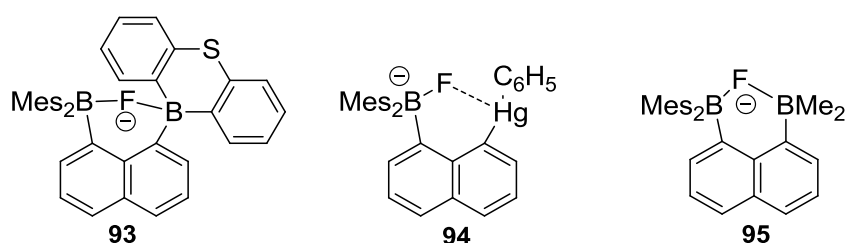


Figure 20: Pinces à fluorures dérivées d'organoboranes

Plus récemment, de nouveaux progrès sont apparus avec le développement de boranes cationiques, ainsi illustré par les composés **96** et **97** porteurs de groupements ammonium ou phosphonium en position *para* (Schéma 38).⁹³

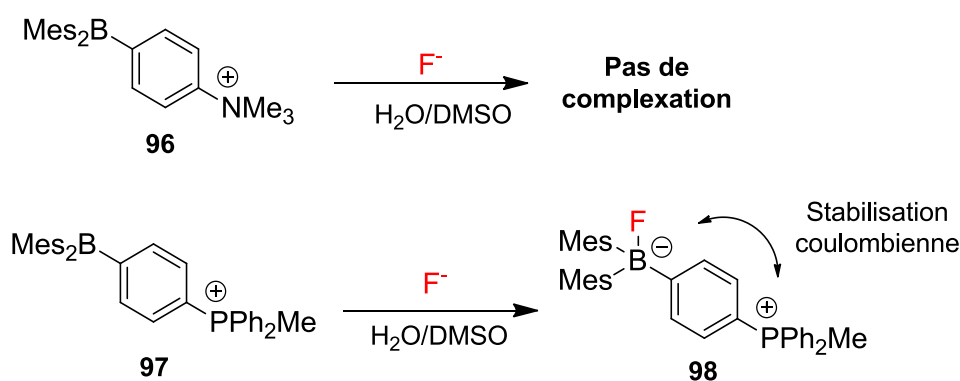


Schéma 38: Exemples d'entités cationiques-boranes pour la complexation du fluor

Il est intéressant de noter que la nature du groupement cationique de ces composés influence considérablement leur capacité de complexation, puisque le sel de phosphonium

⁹⁰ Wade, C. R.; Broomsgrrove, A. E. J.; Aldridge, S.; Gabbaï, F. P. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3958.

⁹¹ Dorsey, C. L.; Jewula, P.; Hudnall, T. W.; Hoefelmeyer, J. D.; Taylor, T. J.; Honesty, N. R.; Chiu, C. W.; Schulbe, M.; Gabbaï, F. P. *Dalton Trans.* **2008**, 4442.

⁹² Hudnall, T. W.; Chiu, C-W.; Gabbaï, F. P. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 388.

⁹³ Zhao, H.; Leamer, L. A.; Gabbaï, F. P. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 8164.

borane **97** piège les anions fluorures dans l'eau, contrairement à son analogue ammonium **96**.⁹³ Dans la continuité, le groupement cationique a été placé en position *ortho* par rapport au borane pour donner un effet de pince à l'égard des ions fluorures (**Schéma 39**).

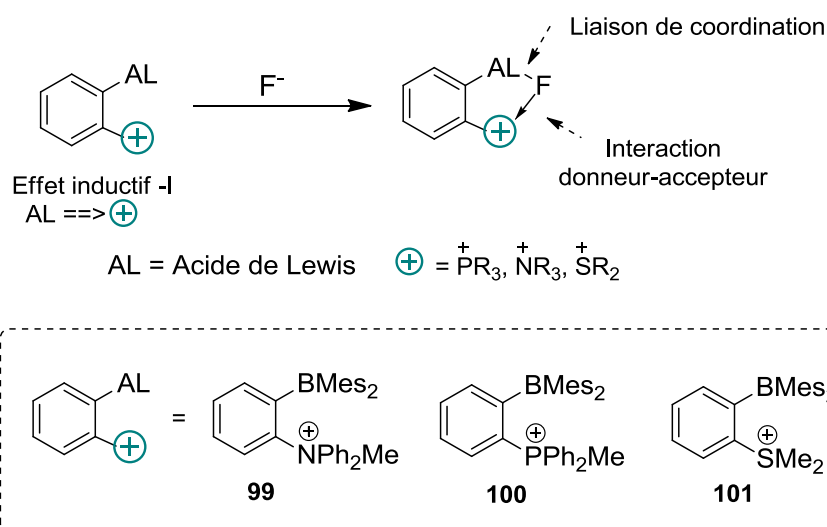


Schéma 39: Schéma général illustrant les forces et interactions impliquées pour la chélation d'un fluorure par des dérivés bidentates boranes/cationiques (99-101)

Ces composés pinces (**99-101**) qui portent deux sites acides de Lewis dont un cationique, présentent une excellente affinité pour le fluor. En effet, en plus des effets inductifs attracteurs et d'interactions ioniques (coulombiennes) favorisant le piègeage des fluorures, les complexes pinces sont stabilisés par des transferts d'électrons de type donneur-accepteur (**Schéma 39**).^{93,94} Très logiquement et dans la suite des travaux de marquage par des $[^{18}F]$ -trifluoroborates, Gabbaï *et al.* ont développé de nouveaux types de pince onium-trifluoroborate, tels que **102-104** qui ont révélés d'excellentes stabilités vis-à-vis de l'hydrolyse (**Figure 21**).⁹⁵

⁹⁴ Hudnall, T. W.; Kim, Y.-M.; Bebbington, M. W. P.; Bourissou, D.; Gabbaï, F. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10890.

⁹⁵ Wade, C. R.; Zhao, H.; Gabbaï, F. P. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6380.

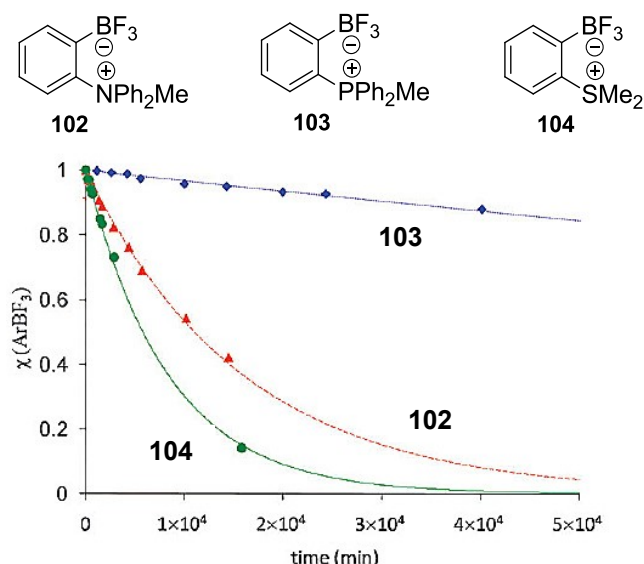


Figure 21: Étude de stabilité en milieu aqueux des composés onium-trifluoroborates

Finalement, il ressort que le phosphonium trifluoroborate **103** présente la meilleure résistance contre l'hydrolyse (> 142 jours) comparativement aux dérivés ammonium et sulfonium correspondants. Après radiomarquage au fluor-18, des études *in vivo* ont été réalisées pour confirmer l'intérêt des entités phosphonium-trifluoroborates comme radiotraceurs. Les premières images TEP ont montré une accumulation du [¹⁸F]-phosphonium trifluoroborate **103** dans le foie de l'animal, ce qui s'explique par le caractère lipophile du composé. L'absence de signaux liés au squelette de l'animal confirme la bonne stabilité *in vivo* du composé **103** (Figure 22).⁹⁶

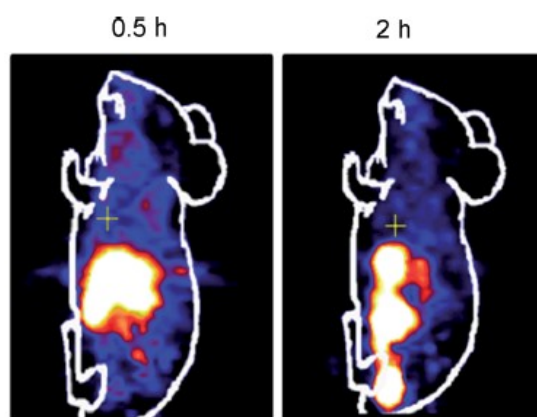


Figure 22: Biodistribution du phosphonium [¹⁸F]-trifluoroborate 103

⁹⁶ Li, Z.; Chansaenpak, K.; Liu, S.; Wade, C. R.; Conti, P. S.; Gabbaï, F. P. *Med. Chem. Commun.* **2012**, 3, 1305.

IV-3. Application des sels de phosphoniums pour la synthèse d'acides aminés boronés en vue d'un développement en imagerie

La synthèse d'acides aminés modifiés pour le marquage des peptides est un domaine en pleine émergence. Récemment, au laboratoire, la synthèse d'acides aminés insaturés a été mise au point par réaction du sel de phosphonium **106** avec différents aldéhydes (**Schéma 40**).⁸⁵

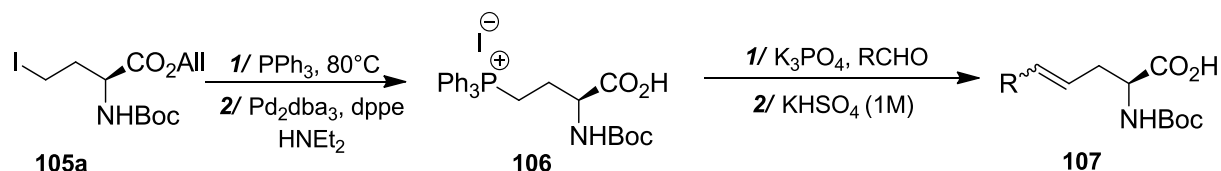


Schéma 40: Synthèse du sel de phosphonium **106 et des acides aminés insaturés **107** par réaction de Wittig**

Ce iodure de phosphonium **106** est obtenu par quaternisation de la triphénylphosphine avec le iodo-γ-NHBoc aminoester d'allyle **105a**, préalablement préparé à partir de l'acide aspartique. Après déallylation de l'ester par réaction de la diéthylamine en présence d'un complexe de palladium (0), le phosphonium **106** porteur de la fonction acide libre est obtenu avec 80% de rendement et sans racémisation. La réaction de ce sel de phosphonium avec divers aldéhydes dans des conditions de transfert de phase permet d'obtenir stéréosélectivement des acides aminés γ,δ-insaturés **107**, ouvrant ainsi des nouvelles possibilités pour la synthèse d'acides aminés non classiques utiles pour le marquage, le diagnostic ou la thérapie (**Schéma 40**).⁸⁵

Dans la continuité de ce travail, le sel de phosphonium **106** a été utilisé pour la préparation d'acides aminés boronés et trifluoroboronés dans la perspective d'un marquage par le fluor-18 (**Schéma 41**). Ainsi quand le sel **106** réagit avec le pinacolato-boronato benzaldéhyde **108**, puis avec KHF₂, les acides aminés boronés et trifluoroboronés **109** et **110** sont obtenus respectivement avec 67 et 68% de rendement (**Schéma 41a**).

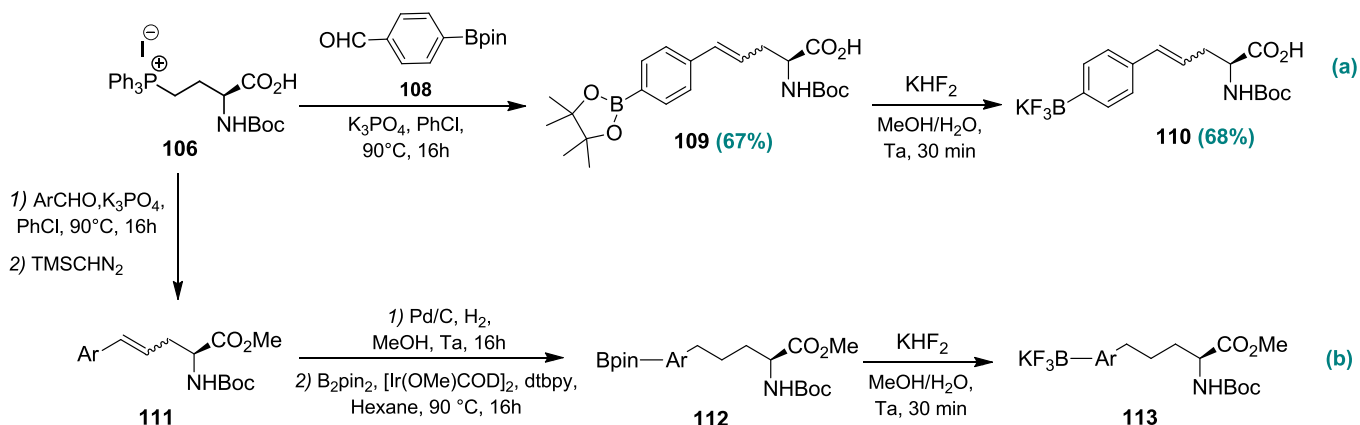


Schéma 41: Préparation d'acides aminés boronés/trifluoroboronés à partir du sel de phosphonium **106**

Malheureusement, dans les conditions de Wittig, lorsque le sel de phosphonium **106** réagit avec d'autres aldéhydes boronés pour donner les acides aminés insaturés

correspondants, la perte du groupement borylé est observée. C'est la raison pour laquelle, la synthèse de ces aminoacides a été envisagée en deux temps, d'une part par réaction de Wittig pour donner un précurseur aminoester aromatique, puis d'autre part par catalyse de borylation pour obtenir le dérivé boronate correspondant (**Schéma 41b**).⁹⁷

Ces aminoacides boronates **109** et **112** ont été utilisés pour la préparation des trifluoroborates correspondants par réaction avec KHF_2 , notamment dans la perspective d'un développement pour l'imagerie médicale. L'étude de la stabilité aqueuse des trifluoroborates aminoacides réalisée en solution tampon (pH 7) révèle qu'elle est très dépendante des substituants sur le cycle aromatique ou hétéroaromatique. Ainsi, les précurseurs **114** et **115** ont présenté une très bonne stabilité à l'égard de l'hydrolyse, et apparaissent comme de bons candidats pour le marquage de peptides par le fluor-18 (**Figure 23**).⁹⁷



Figure 23: Trifluoroborates aminoacides stables envers l'hydrolyse

V. Problématique et Objectif

Au regard de cette étude bibliographique, la Tomographie par émission de positons est devenue au cours des années, une technique d'imagerie très performante pour le diagnostic médical, ainsi que pour le développement et l'évaluation de composés d'intérêt thérapeutique. Néanmoins, à ce jour, malgré les caractéristiques très favorables du fluor-18 comme radioélément, on dénombre que peu de radiopharmaceutiques fluorés utilisés en routine, et qui présentent malgré tout des limitations en termes de spécificité *in vivo*.

Ainsi, la conception de radiotraceurs fluorés plus spécifiques utilisant les peptides et les aminoacides s'avère pleine de potentiel. Ceci est d'autant plus vrai qu'il y a matière à développer des méthodologies de marquage compatibles avec la nature et la structure des biomolécules. Le radiomarquage direct par liaison $\text{C-}^{18}\text{F}$ est intéressant pour introduire le fluor-18 au dernier stade de la synthèse, mais les conditions de réactions sont généralement trop dures pour les aminoacides et peptides. C'est la raison pour laquelle le marquage de biomolécules a été principalement réalisé par l'emploi de groupements prosthétiques. Des conditions certes plus douces sont employées, mais celles-ci entraînent un allongement du temps total de radiosynthèse.

Cette méthode de marquage commence à être concurrencée de plus en plus sérieusement par de nouvelles approches qui reposent sur la création de liaisons de type $\text{B-}^{18}\text{F}$, $\text{Si-}^{18}\text{F}$ ou $\text{Al-}^{18}\text{F}$. Celles-ci ont montré leur potentiel pour le développement d'agents imageants TEP. Tout récemment, la capacité des sels de phosphonium pour le marquage des

⁹⁷ Audi, H.; Rémond, E.; Eymin, M.-J.; Tessier, A.; Malacea-Kabbara, R.; Jugé, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7960.

dysfonctionnements mitochondriaux et comme pinces à fluorures pour l'imagerie TEP a été démontrée. De récents travaux au laboratoire ont souligné l'importance des sels de phosphonium pour la synthèse d'acides aminés boronés, utiles pour le marquage de peptides par le fluor-18 avec création de liaisons B- ^{18}F . Cette méthode est prometteuse car elle permet une grande modulation à la fois du sel de phosphonium et du substituant boroné.

Dans ce contexte, ce travail a pour objectif de mettre au point la synthèse de dérivés *ortho*-boronato et trifluoroborato phényl phosphoniums dans le but d'en faire des pinces à fluorures-18 pour le développement d'une nouvelle classe de radiomarqueurs pour le marquage de peptides et des mitochondries (Schéma 42).

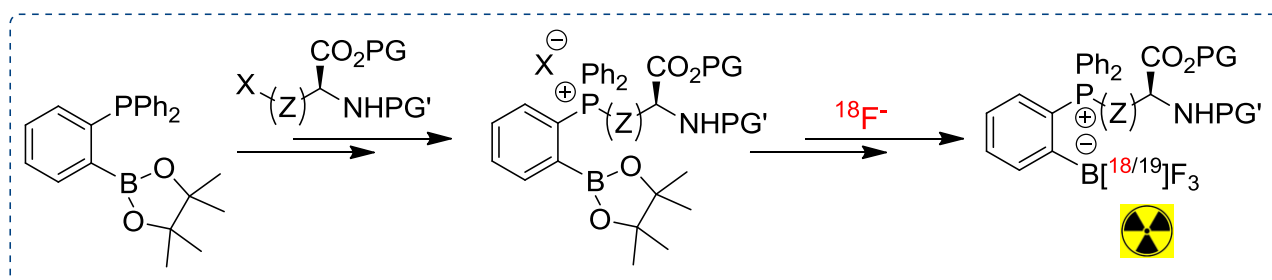


Schéma 42: Schéma de principe du projet

Ce travail est structuré en trois chapitres :

Un **premier chapitre** abordera la synthèse des sels de phosphonium boronates dérivés de la sérine ou d'acide aspartique, ainsi que les études de couplage peptidique.

L'utilisation des dérivés phosphoniums boronés pour la préparation des trifluoroborates correspondants, et les études de stabilité en milieu aqueux réalisées seront décrites dans un **second chapitre**.

Enfin, le radiomarquage par le fluor-18 des pinces à fluorures, par échange isotopique ou par marquage direct en présence de KHF_2 sera traité dans un **dernier chapitre**. Ce travail a été fait au sein du Positron Emission Tomography Research Centre de l'Université de Hull, en collaboration avec le Pr. S. Archibald.

Chapitre 2

Synthèse des sels de Phosphonium Boronate dérivés d'AminoAcides (PBAA)

Jusqu'à présent, relativement peu d'exemples de sels de phosphonium sur la chaîne latérale d'aminoacides ont été décrits dans la littérature.

Itaya *et al.* ont ainsi décrit la synthèse des sels de phosphonium **117** dérivés de la sérine par quaternisation de β -iodo aminoester **116** avec la triphénylphosphine (**Schéma 43**). Cette réaction, qui est effectuée dans le toluène à 50°C nécessite jusqu'à 34 jours de réaction et s'accompagne malheureusement de sous-produits notamment par élimination β .⁹⁸

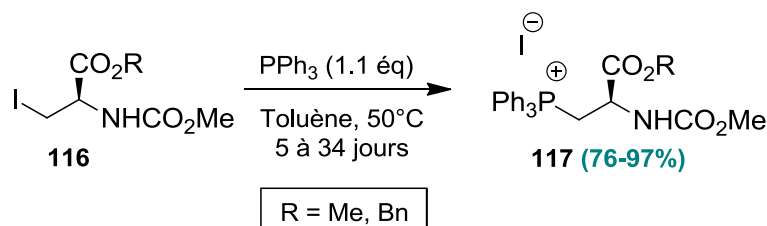


Schéma 43: Préparation des sels de phosphonium 117 dérivé de sérine

D'un autre côté, l'équipe de Sibi a synthétisé un sel de phosphonium dérivé d'oxazolidinone **120** en 5 étapes (**Schéma 44**). L'étape de quaternisation nécessite 24 heures dans le DMF à 100°C et l'utilisation d'un large excès de triphénylphosphine (>10 équivalents).⁹⁹

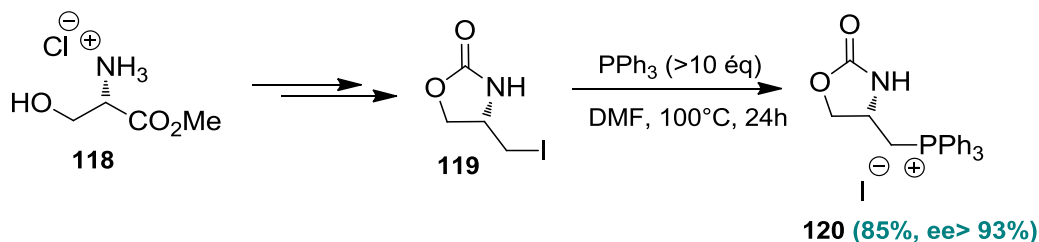


Schéma 44: Synthèse du sel de phosphonium 120

Au laboratoire, la synthèse de sels de phosphonium dérivés des aminoesters **123** et **124** a fait l'objet de plusieurs travaux (**Schéma 45**). Ainsi, en partant de la triphénylphosphine, la quaternisation des β -halogéno-aminoesters de sérine **122** dans le chloroforme à reflux pendant 2 jours donne les sels de phosphonium correspondants avec des rendements de 68 à 95%.¹⁰⁰ De même, quand les γ -iodo NHBoc-aminoesters **105** réagissent par fusion à 80°C pendant 2 heures avec la triphénylphosphine, les sels de phosphonium dérivés de l'homosérine **124** sont obtenus avec succès et sans racémisation.⁹⁶

⁹⁸ a) Itaya, T.; Mizutani, A. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 347. b) Itaya, T.; Mizutani, A.; Iida, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 1407.

⁹⁹ a) Sibi, M. P.; Renhowe, P. A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 7407. b) Sibi, M. P.; Rutherford, D.; Renhowe, P. A.; Li, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7509.

¹⁰⁰ Meyer, F.; Laaziri, A.; Papini, A. M.; Uziel, J.; Jugé, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 2229.

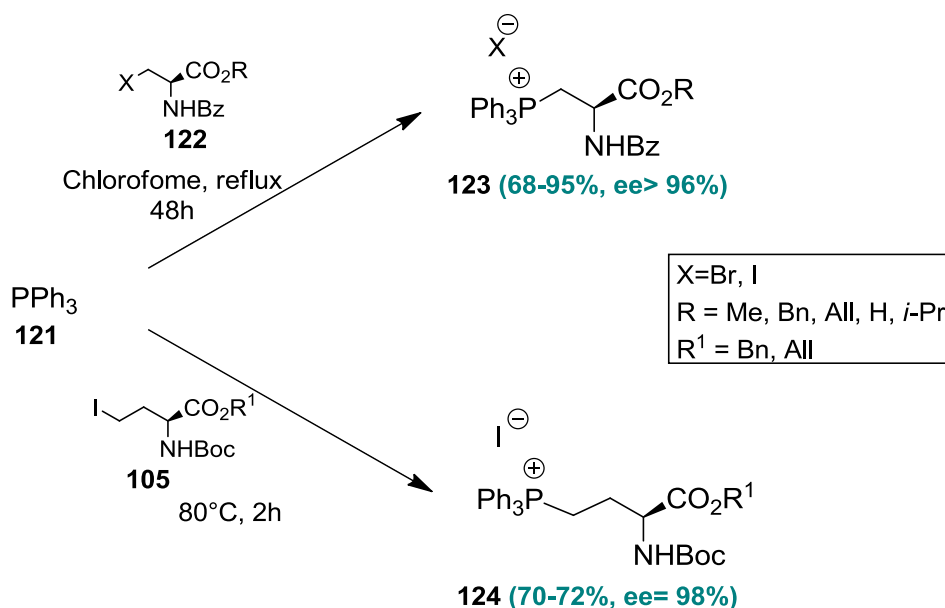


Schéma 45: Synthèse des sels de phosphonium dérivés de serine ou d'acide aspartique 123, 124

Tous les sels de phosphonium présentés ci-dessus ont été utilisés pour la préparation d'acides aminés insaturés par réaction de Wittig. En effet, les acides aminés insaturés sont connus pour être de bons inhibiteurs d'enzymes¹⁰¹ et peuvent être utilisés en synthèse, par couplage carbone-carbone tels que métathèse,¹⁰² Heck¹⁰³...

Dans ce travail, nous avons donc choisi de remplacer la triphénylphosphine par l'*ortho* pinacolato boronate phényl phosphine **125** afin de développer des sels de phosphonium dérivés d'acides aminés qui puissent être utilisés comme pinces à fluorures pour le marquage par le radioélément [¹⁸F] (Schéma 46). La phosphine boronate **125** présente l'avantage d'être stable à l'air et facile à préparer.

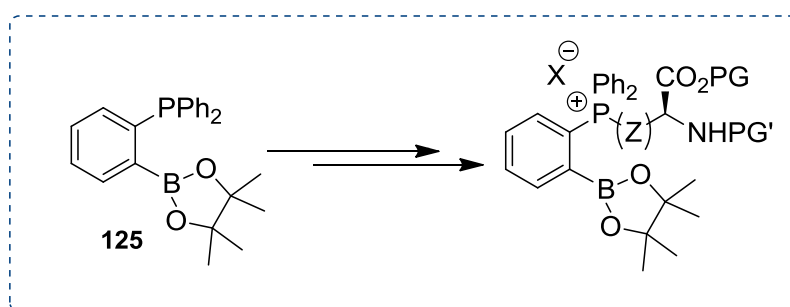


Schéma 46: Stratégie utilisée pour la mise au point des pinces boronées

¹⁰¹ Berkowitz, D. B.; Chisowa, E.; McFadden, J. M. *Tetrahedron* **2001**, 57, 6329.

¹⁰² Nolen, E. G.; Kurish, A. J.; Wong, K. A., Orlando, M. D. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2449.

¹⁰³ Collier, P. N.; Patel, I.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3401.

I. Préparation de la phosphine *ortho*-boronaté

Depuis quelques années, les systèmes ambiphiles de type phosphine-boronate liés par un pont *ortho*-phénylène ont reçu une attention particulière. En effet, les performances catalytiques de tels systèmes peuvent être modifiées grâce à la proximité du centre acide de Lewis boronate et de la phosphine, du fait de la coopération des sites acide-base.¹⁰⁴ Ces composés ont notamment été utilisés pour l'activation de l'oxygène singulet,¹⁰⁵ la réduction du dioxyde de carbone,¹⁰⁶ et aussi en tant qu'organocatalyseur dans la réaction d'addition de Michael.¹⁰⁴ Par ailleurs, comme cela a été évoqué dans l'introduction, les phosphines boronates commencent à être appliquées à l'imagerie TEP, en tant que pinces à [¹⁸F]-fluorures stables *in vivo*.⁹⁶

La phosphine **125** a été synthétisée en deux étapes à partir de l'*ortho*-dibromobenzène **126**, selon une procédure de la littérature (**Schéma 47**).^{105, 107} Ainsi, l'*ortho*-bromo phényl lithium, préalablement préparé par échange halogène-métal (monolithiation) du 1,2 dibromobenzène **126** à -110°C, réagit avec la chlorodiphénylphosphine et conduit à la phosphine *ortho*-bromée **127** avec 72% de rendement.

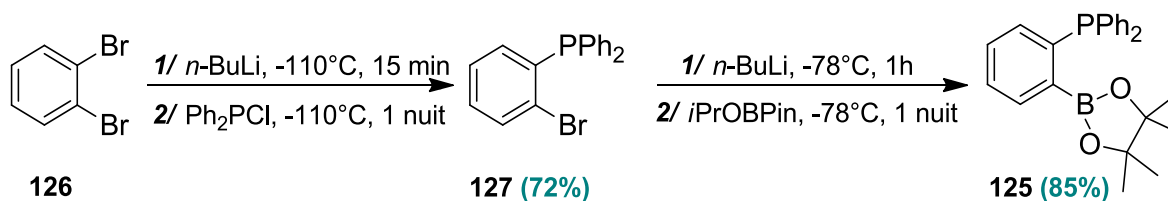


Schéma 47: Synthèse de l'*ortho* pinacolato boronato phényl phosphine 125

La phosphine *o*-boronate **125** est ensuite obtenue avec 85% de rendement par réaction de l'anion en position *ortho* de la phosphine **127** obtenu par échange halogène- métal, avec l'isopropyl pinacol borate (**Schéma 47**).

¹⁰⁴ Balsé, O.; Porcel, S.; Ladeira, S.; Bouhadir, G.; Bourissou, D. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 4495.

¹⁰⁵ Porcel, S.; Bouhadir, G.; Saffon, N.; Maron, L.; Bourissou, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6186.

¹⁰⁶ Courtemanche, M. -A.; Légaré, M. -A.; Maron, L.; Fontaine, F. -G. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 9326.

¹⁰⁷ Harder, S.; Brandsma, L.; Kanters, J. A.; Duisenberg, A.; van Lenthe, J. H. *J. Organomet. Chem.* **1991**, 420, 143.

II. Stratégie de synthèse des sels de Phosphonium Boronate dérivés d'AminoAcides (PBAA)

Plusieurs approches ont été envisagées pour la préparation des sels de phosphonium boronates dérivés d'aminoacides (**Schéma 48**).

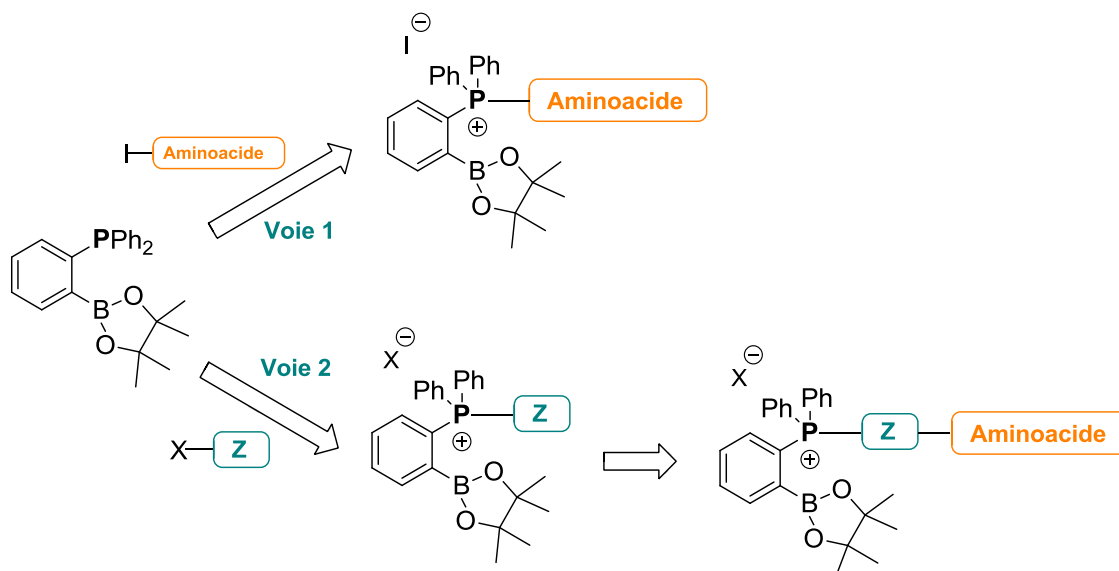


Schéma 48: Stratégies d'accrochage de la phosphine boronate à des aminoacides

La **première stratégie** consiste à quaterniser la phosphine *o*-boronate avec un dérivé iodé d'aminoacide (**Schéma 48, voie 1**). Dans ce cas, il est nécessaire que la partie aminoacide soit convenablement protégée pour permettre par la suite des déprotections compatibles avec le sel de phosphonium boronaté et envisager un couplage peptidique.

La **seconde stratégie** s'appuie sur la quaternisation de la phosphine *o*-boronate avec un halogénure fonctionnalisé (connecteur Z), afin d'obtenir un sel de phosphonium boronate porteur d'un groupement greffable à un aminoacide ou peptide (groupement prosthétique, **Schéma 48, voie 2**).

II-1. Première approche : synthèse par quaternisation directe d'un iodo aminoacide

II-1-1. Synthèse des sels de phosphonium boronate en position β

II-1-1-1. Préparation du (R)-2-Benzamido-3-iodopropanoate d'allyle **122a**

La synthèse du β -iodo-N-benzoyl- α -aminoester **122a** a été réalisée selon une procédure classique mise au point au laboratoire, par ouverture régio- et stéréosélective d'un intermédiaire oxazoline **132** dérivé de la sérine **128** (Schéma 49).

Ainsi, l'oxazoline allyle **132** est préparée par condensation du chlorhydrate d'imine éther **131**, dérivé du benzonitrile **130** avec le sérinate d'allyle **129** en présence de triéthylamine (Schéma 49).^{100, 108, 109}

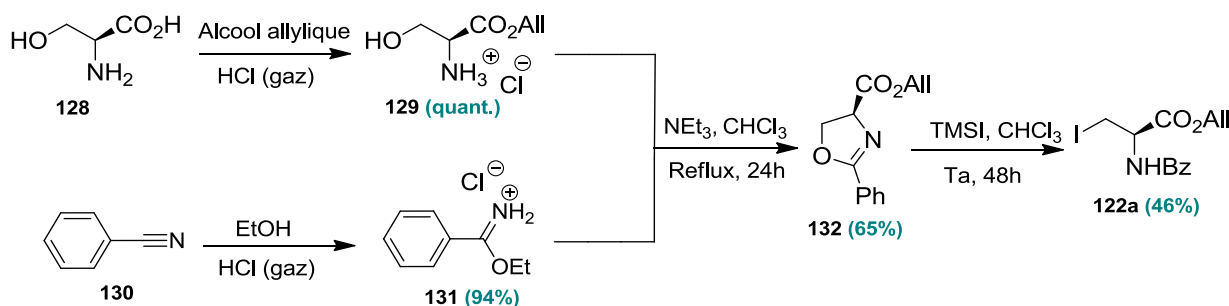


Schéma 49: Synthèse du (R)-2-Benzamido-3-iodopropanoate d'allyle **122a**

Le traitement de l'oxazoline **132** par l'iodure de triméthylsilyle dans le chloroforme à température ambiante conduit à l'iodo aminoester d'allyle correspondant **122a**. L'ouverture de l'oxazoline au niveau de la liaison C₅-O₁ s'explique par la formation d'un sel d'oxazolinium intermédiaire **133**, puis attaque nucléophile de l'iodure sur le carbone en position C₅ qui entraîne la coupure de la liaison C₅-O₁ (Schéma 50).¹⁰⁰

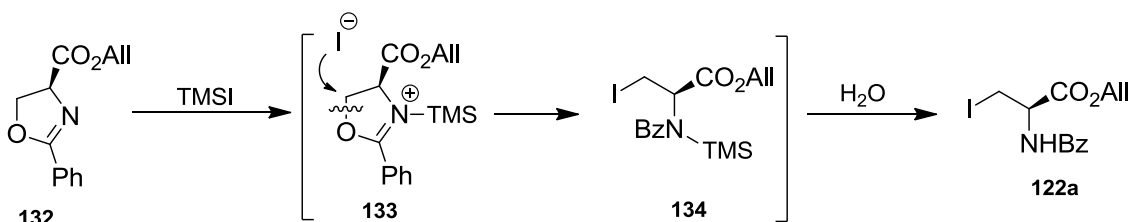


Schéma 50: Mécanisme de réaction oxazoline/TMSI

¹⁰⁸ Huang, Y.; Dalton, D. R.; Carroll, P. J. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 372.

¹⁰⁹ a) Laaziri, A.; Uziel, J.; Jugé, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 437. b) Meyer, F. *Thèse de l'Université de Cergy-Pontoise*, **2000**.

II-1-1-2. Préparation de l'acide (R)-2-Benzamido-3-iodopropanoïque 122b

La méthode de synthèse précédente a également été appliquée pour la préparation du β -iodo aminoacide **122b**.¹⁰⁰ Ce composé présente la particularité de posséder une fonction acide libre directement utilisable pour la conjugaison sur un vecteur peptidique.

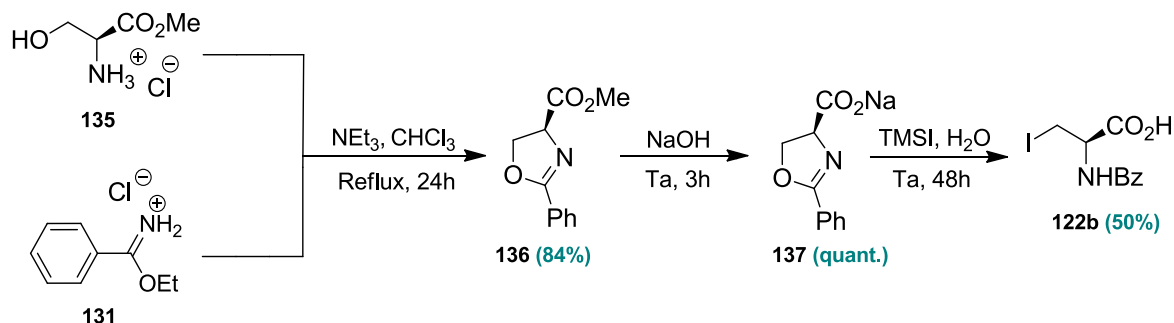


Schéma 51: Synthèse du β -iodo-N-benzoyl- α -aminoacide 122b

De manière analogue, l'oxazoline carboxylate de méthyle **136** est préparée avec 84% de rendement par condensation du chlorure d'imino ether **131** avec le sérinate de méthyle **135**. La saponification du dérivé **136** avec l'hydroxyde de sodium mène au sel d'oxazoline **137** qui réagit avec le iodure de triméthylsilane en présence d'eau pour conduire au iodo aminoacide **122b** avec 50% de rendement, alors que précédemment un rendement de 90% était obtenu¹⁰⁰. Ce rendement moyen s'explique par le fait qu'un lavage acido-basique a été ajouté pour éliminer la totalité des sels de sodium (**Schéma 51**).

II-1-1-3. Synthèse des sels de phosphonium boronates dérivés de la sérine

En se basant sur les travaux antérieurs du laboratoire,^{100,109} nous avons réalisé la quaternisation des iodo aminoester **122a** et acide **122b** en remplaçant la triphénylphosphine par l'*ortho* pinacolato boronato phényl phosphine **125** décrite précédemment. Dans ce cas, la réaction de quaternisation s'effectue dans l'acétonitrile à 60°C, et l'analyse RMN ³¹P montre que la réaction est complète après 1 nuit (**Schéma 52**).

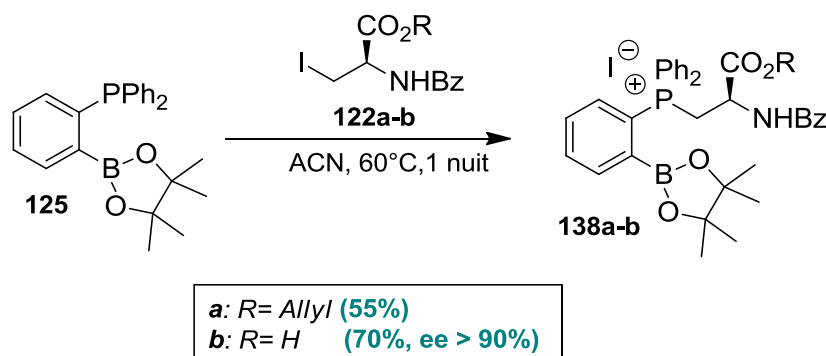


Schéma 52: Préparation des phosphonium boronates dérivés de la sérine 138a-b

Les β -iodo-N-benzoyl- α -aminoester d'allyle **122a** et acide **122b** conduisent aux sels de phosphonium **138** correspondants avec des rendements allant jusqu'à 70%. Toutefois,

les conditions de purification des deux sels diffèrent : dans le cas du composé **138a**, celui-ci est chromatographié sur silice avec un éluant dichlorométhane/acétone (2:1) tandis que le sel de phosphonium **138b** est isolé par précipitation dans un mélange dichlorométhane-éther.¹¹⁰

Ces deux dérivés ont été complètement caractérisés et la présence du phosphonium est confirmée par RMN ³¹P avec des signaux à +26,3 ppm pour **138a** et +26,0 ppm pour **138b**. Il est important de constater que les conditions de quaternisation sont compatibles avec le groupement boronate puisqu'aucune déboronation ou perte du pinacol n'est observée durant la réaction.¹¹⁰

L'excès énantiomérique du sel de phosphonium aminoacide **138b** a été déterminé supérieur à 90% par RMN ³¹P en présence de la (1*R*,2*S*)-2-(diméthylamino)-1-phénylpropan-1-ol **139**.¹¹¹ Le principe de ce dosage repose sur la formation de sels diastéréoisomères, par réaction de l'amine chirale **139** avec la fonction acide carboxylique du sel de phosphonium **138b** (Schéma 53).

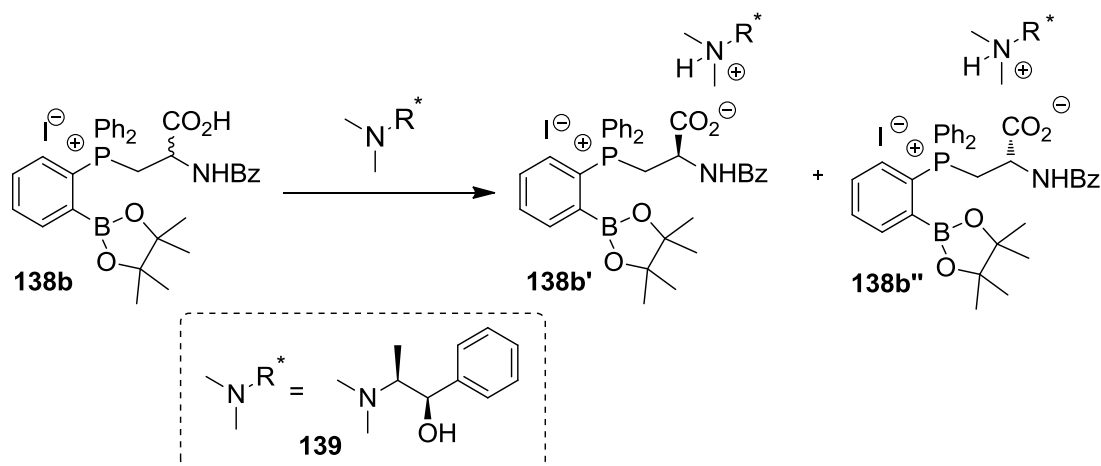


Schéma 53: Détermination de l'excès énantiomérique en présence de l'amine chirale **139**

La Figure 24 montre le spectre RMN ³¹P du sel de phosphonium **138b** obtenu en présence de la (1*R*,2*S*)-2-(diméthylamino)-1-phénylpropan-1-ol **139** par comparaison avec un échantillon racémique.

¹¹⁰ Bernard, J.; Malacea-Kabbara, R.; Goncalo, C.; Burke, B. P.; Eymin, M. -J.; Archibald, S. J.; Jugé, S. *J. Org. Chem. (Submitted)*

¹¹¹ Rudzinska, E.; Berlicki, L.; Kafarski, P.; Lämmerhofer, M.; Mucha, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, 20, 2709.

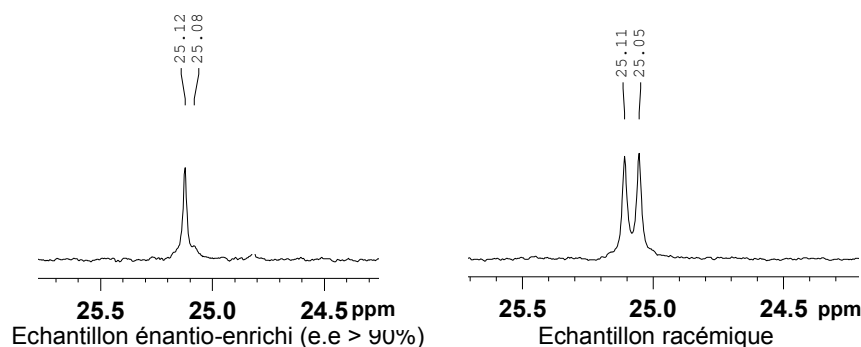


Figure 24: Spectre RMN ^{31}P d'échantillon de sel de phosphonium **138b** en présence de l'acide aminé **139**

II-1-1-4. Étude de couplage peptidique sur le sel de phosphonium aminoacide **138b**

Dans la perspective d'un marquage de peptides, il était intéressant de s'assurer de la compatibilité des groupements phosphonium et boronate dans les conditions d'une synthèse peptidique. Ainsi, nous avons voulu vérifier la faisabilité du couplage par formation du dipeptide **141** (Schéma 54).

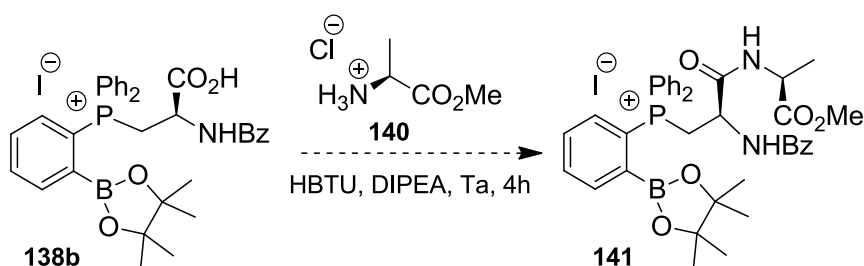


Schéma 54: Étude de couplage peptidique sur le phosphonium **138b**

Un premier essai de réaction a été tenté entre le sel de phosphonium aminoacide **138b** et l'alaninate de méthyle **140** dans des conditions de couplage classique.¹¹² Ainsi, le sel de phosphonium est mis à réagir avec le chlorure d'alanine **140**, en présence de DIPEA et d'HBTU comme agent de couplage durant 4 heures à température ambiante. L'analyse RMN ^{31}P a montré un pic à -4,2 ppm caractéristique de la phosphine o-boronatée **125**. Ce résultat peut s'expliquer par une dégradation du sel de phosphonium par élimination de la phosphine boronate **125** comme cela est rapporté sur le Schéma 55.

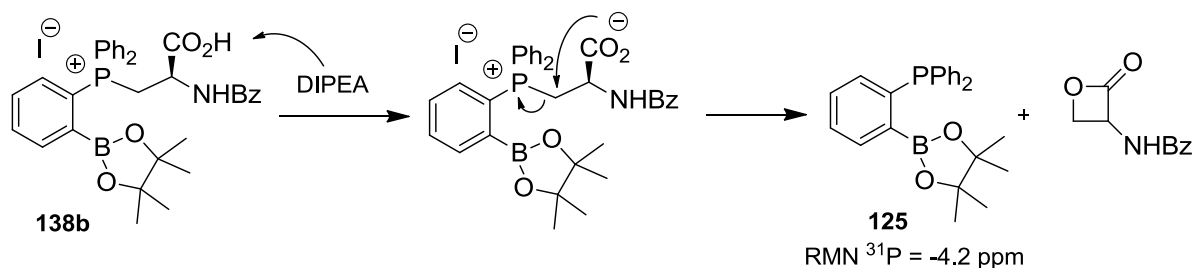


Schéma 55: Mécanisme proposé pour la décomposition du sel de phosphonium boronate **138b**

¹¹² Tremblay, M. S.; Lec, M.; Sames, D. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5.

Suite à ce résultat, nous avons envisagé une autre stratégie de couplage par formation d'un ester activé. Ainsi, le phosphonium **138b** a été mis à réagir avec le *N*-hydroxysuccinimide en présence d'EDC dans le dichlorométhane, à température ambiante durant 2 heures. Dans ce cas, l'analyse par RMN ^{31}P a seulement montré la formation d'oxyde de phosphine, ce qui suggère à nouveau une dégradation du sel de phosphonium dans des conditions basiques. L'étude de couplage est actuellement envisagée dans d'autres conditions pour tenter d'obtenir le dipeptide **141**.

II-1-2. Synthèse des sels de phosphonium boronates en position Y

II-1-2-1. Préparation du (S)-2-[(*t*-butyloxycarbonyl)amino]-4-iodobutanoate d'allyle et de benzyle **105**

Les dérivés γ -iodo aminoesters **105** sont synthétisés à partir de l'acide aspartique selon le schéma réactionnel ci-dessous (**Schéma 56**).

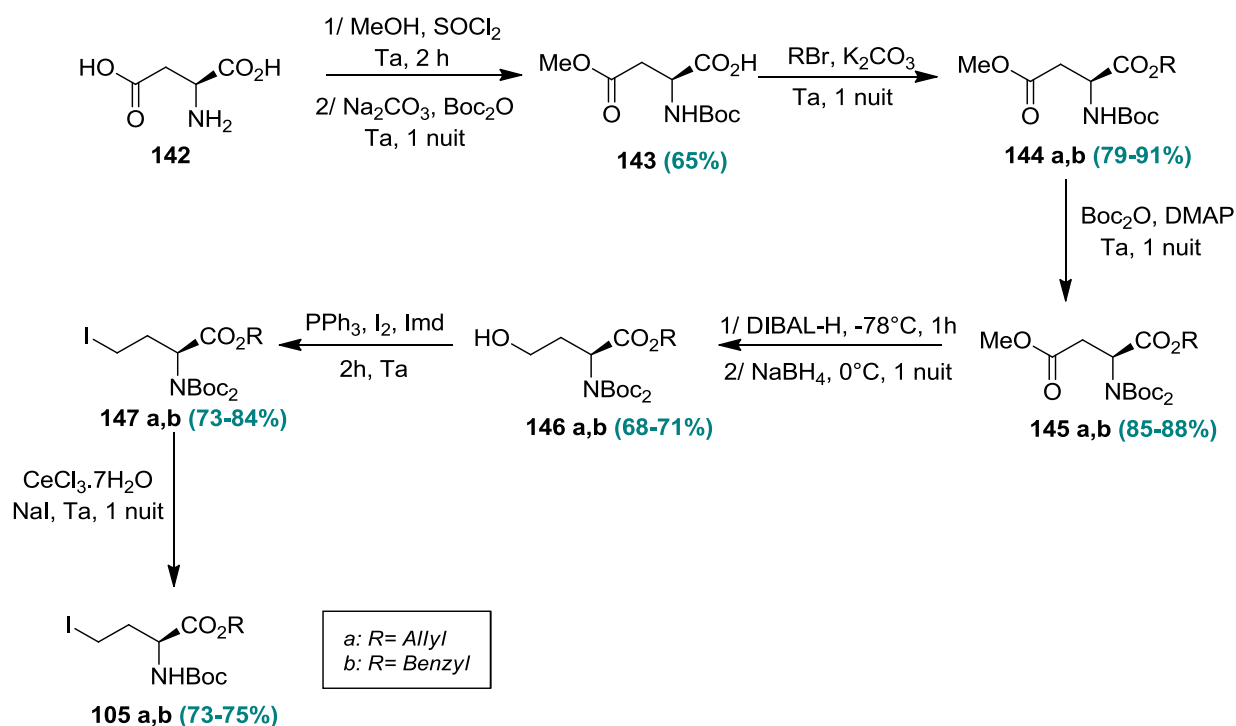


Schéma 56: Synthèse des γ -iodo aminoester d'allyle et de benzyle **105**

L'acide L-aspartique **142** est tout d'abord estérifié par le méthanol, puis l'amine est protégée par un groupe *t*-butyloxycarbonyl pour donner le monoester **143** (**Schéma 56**). Une seconde estérification est alors réalisée par alkylation avec le bromure d'allyle ou de benzyle pour donner le diester mixte **144**. Après une nouvelle protection du groupement amino par un groupement Boc, le diester **145** est réduit en alcool primaire **146** par le DIBAL, puis NaBH_4 avec 71% de rendement. La substitution de la fonction hydroxyle par un iodure

est effectuée par réaction de triphénylphosphine et de diiode, ce qui permet d'obtenir le dérivé iodé **147** avec de très bons rendements.¹¹³

Afin d'éviter une déprotection partielle des groupements *t*-butoxycarbonyl au cours de la quaternisation,¹¹⁴ le composé **147** a été mono-N déprotégé. Au final, les dérivés γ -iodo d'aminoester **105** sont isolés après mono déprotection par réaction de sel de cérium avec l'iodure de sodium (rds 73-75%, **Schéma 56**).

II-1-2-2. Synthèse des sels de phosphonium boronates dérivés d'acide aspartique

La quaternisation de l'*ortho* pinacolato boronato phényl phosphine **125** par les γ -iodo aminoesters **105** est réalisée de façon analogue à celle décrite pour les composés en série sérine. Aussi, en partant du γ -iodo NHBoc-aminoester d'allyle **105a**, la réaction avec la phosphine **125** dans le toluène à 76°C pendant 6 heures donne le phosphonium *ortho* borane aminoester **148a** avec 88% de rendement (**Schéma 57**). Dans le cas du γ -iodo NHBoc-aminoester de benzyle **105b**, la quaternisation avec **125** conduit au sel de phosphonium correspondant **148b** avec 80% de rendement (**Schéma 57**).¹¹⁰

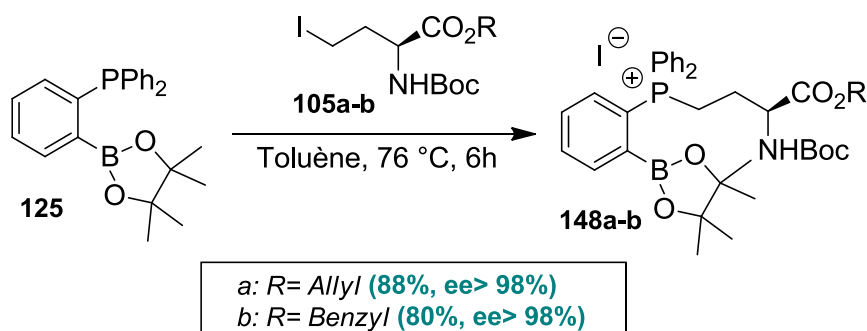


Schéma 57: Quaternisation de la phosphine boronate 125 sur les iodo aminoesters 105a-b

Ces deux composés boronates (**148a**, **148b**) ont été complètement caractérisés et la présence du phosphonium est confirmée par RMN ³¹P avec des signaux à +27,95 ppm pour **148a** et +27,93 ppm pour **148b**.¹¹⁰ Leur pureté énantiomérique a été contrôlée par RMN ³¹P en présence de l'agent d'énantiodifférentiation (Λ ,R)-BINPHAT **149**, par comparaison avec un échantillon racémique (**Figure 25**).¹¹⁵ Dans ce cas, un seul signal est observé, ce qui prouve l'absence de racémisation dans les conditions de quaternisation. L'excès énantiomérique du sel **148a** qui est déterminé par intégration des signaux, dépasse 98%.

a) Koseki, Y.; Yamada, H.; Usuki, T. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, 22, 580. (b) Adamczyk, M.; Ison, D. D.; Reddy, R. E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 3063. (c) Ramalingam, K.; Woodard, V. J. *Org. Chem.* **1988**, 53, 1900. (d) Brown, F. K.; Brown, P. J.; Bickett, D. M.; Chambers, C. L.; Iles, H. G.; Deaton, D. N.; Drewry, D.; Foley, M.; McElroy, A. B.; Gregson, M.; McGeehan, G.; Irs, P. L.; Norton, D.; Salovich, J. M.; Schoenen, F. J.; Ward, P. J. *Med. Chem.* **1994**, 37, 674.

Rémond, E. *Thèse de l'Université de Bourgogne* **2010**.

Febbe, V.; Londez, A.; Goujon-Ginglinger, C.; Meyer, F.; Uziel, J.; Jugé, S.; Lacour, J. *Tetrahedron* **2006**, 44, 2476.

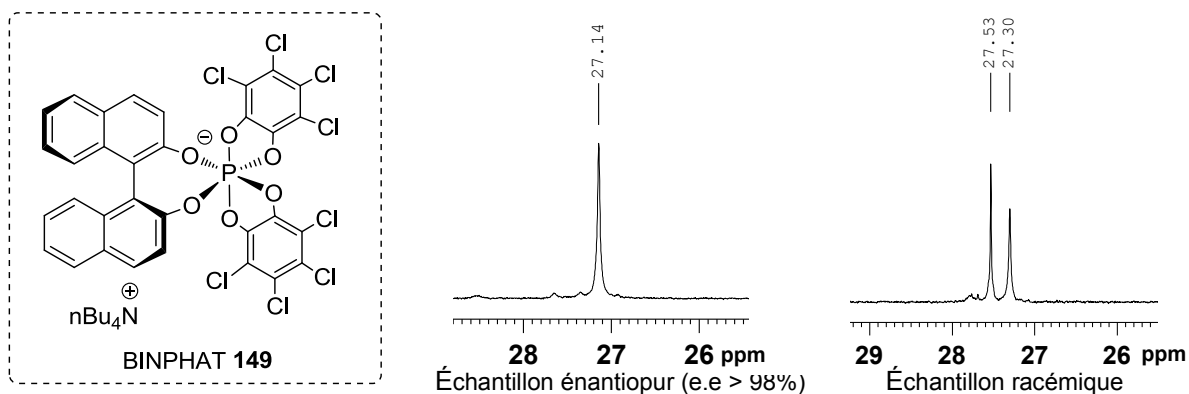


Figure 25: Spectres RMN ^{31}P du sel de phosphonium 148a en présence de l'anion chiral (Λ,R)-BINPHAT 149

Dans le but d'utiliser les sels de phosphonium boronates **148** comme agent d'imagerie TEP, il est important que la partie aminoacide puisse être déprotégée afin d'avoir les fonctions acides carboxyliques ou amines libres en vue d'un greffage sur un peptide de choix (**Schéma 58**).

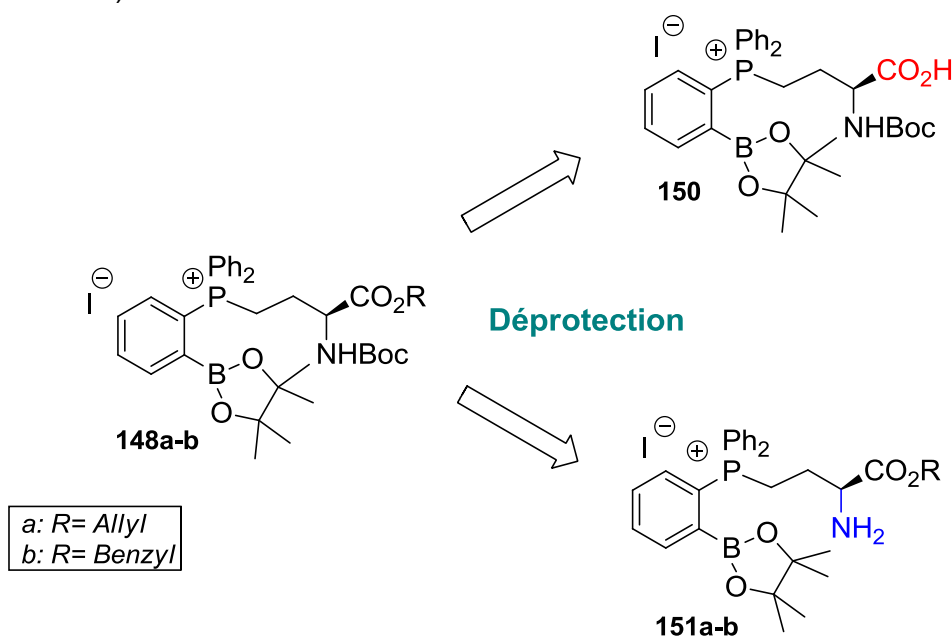


Schéma 58: Stratégie de déprotection sélective des fonctions amine et acide des sels d'alpha-aminoesters **148a-b** en vue d'un greffage

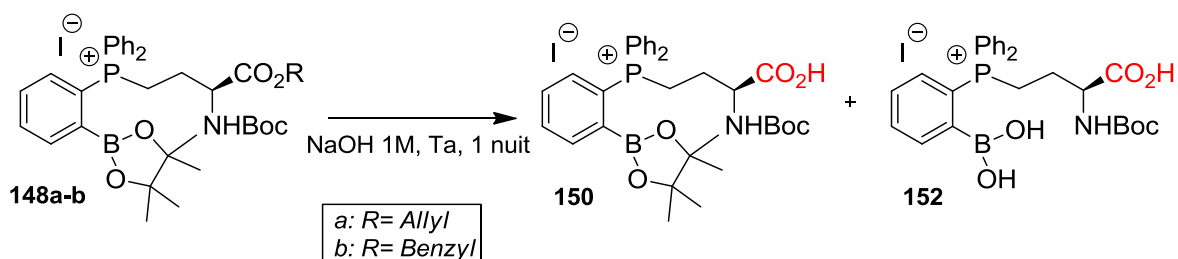
L'hydrogénolyse pour les esters de benzyle et la désallylation pallado-catalysée pour les esters d'allyle sont des méthodes classiques de déprotection de la fonction acide. Le tableau **2** ci-dessous regroupe les différents essais réalisés à ce niveau.

Tableau 2: Étude de débenzylation et désallylation par catalyse au palladium des sels de phosphonium 148a et 148b

Entrée	Sel de phosphonium	Catalyseur/Conditions	Résultats
1	148b	Pd/C (5%), 10b H ₂ , DCM, 15h, Ta	Produit de départ 148b
2		Pd CECA L2-S (10%), 10b H ₂ , DCM, 15h, Ta	Produit de départ 148b
3	148a	Pd ₂ dba ₃ , dppe, HNEt ₂ , THF, 6h, Ta	Mélange de produits dont 148a
4		Pd ₂ dba ₃ , dppe, HNEt ₂ , THF, 24h, Ta	Mélange de produits dont 148a

Dans un premier temps, la débenzylation du sel de phosphonium **148b** a été envisagée par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon ou activé mais sans obtenir le produit acide libre (**Tableau 2, entrées 1, 2**). Ce résultat négatif en hydrogénolyse a déjà été constaté lors des essais de débenzylation du sel de phosphonium **124b**, et s'explique probablement par la présence du contre-ion iodure qui doit désactiver le catalyseur. Dans la littérature, il a été montré que la débenzylation catalysée au palladium peut-être effectuée sans problème avec un chlorure de phosphonium mais pas dans le cas d'un iodure.^{98b}

En ce qui concerne la déprotection du sel de phosphonium ester d'allyle **148a**, celle-ci a été étudiée par amination allylique catalysée par un complexe de palladium/dppe (**Tableau 2, entrées 3-4**). Malheureusement, les essais réalisés dans ces conditions ont abouti à des mélanges de produits difficilement séparables, avec majoritairement le produit de départ **148a**. Devant ces résultats, la déprotection des sels de phosphonium boronates a été réalisée par saponification dans un mélange dioxane/eau, en présence de soude 1M (**Schéma 59**).¹¹⁶

**Schéma 59: Saponification des esters 148**

Dans ces conditions, l'analyse RMN ³¹P révèle la présence d'un mélange de deux sels de phosphonium acide carboxylique dans un ratio 1:1. Par LC-MS, nous avons pu établir la formation du sel de phosphonium boronate porteur de la fonction acide carboxylique libre **150** et de son dérivé acide boronique correspondant **152** (**Schéma 59, Figure 25**). Cela s'explique par l'hydrolyse partielle du groupement pinacol-boronate dans les conditions de réaction. Cependant, dans le cas d'une fluoruration, les acides boroniques et

¹¹⁶ Chung, S. J.; Chung, S.; Lee, H.; Kim, E.-J.; Oh, K. S.; Choi, H. S.; Kim, K. S.; Kim, Y. J.; Hahn, J. H.; Kim, D. H. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 6462.

les dérivés boronates réagissent de manière similaire avec le KHF_2 pour donner les trifluoroborates correspondants, ainsi le mélange des deux sels de phosphonium sera utilisé par la suite sans purification. La **Figure 25** montre également la formation minoritaire du sel de phosphonium déboronaté **106**.¹¹⁰

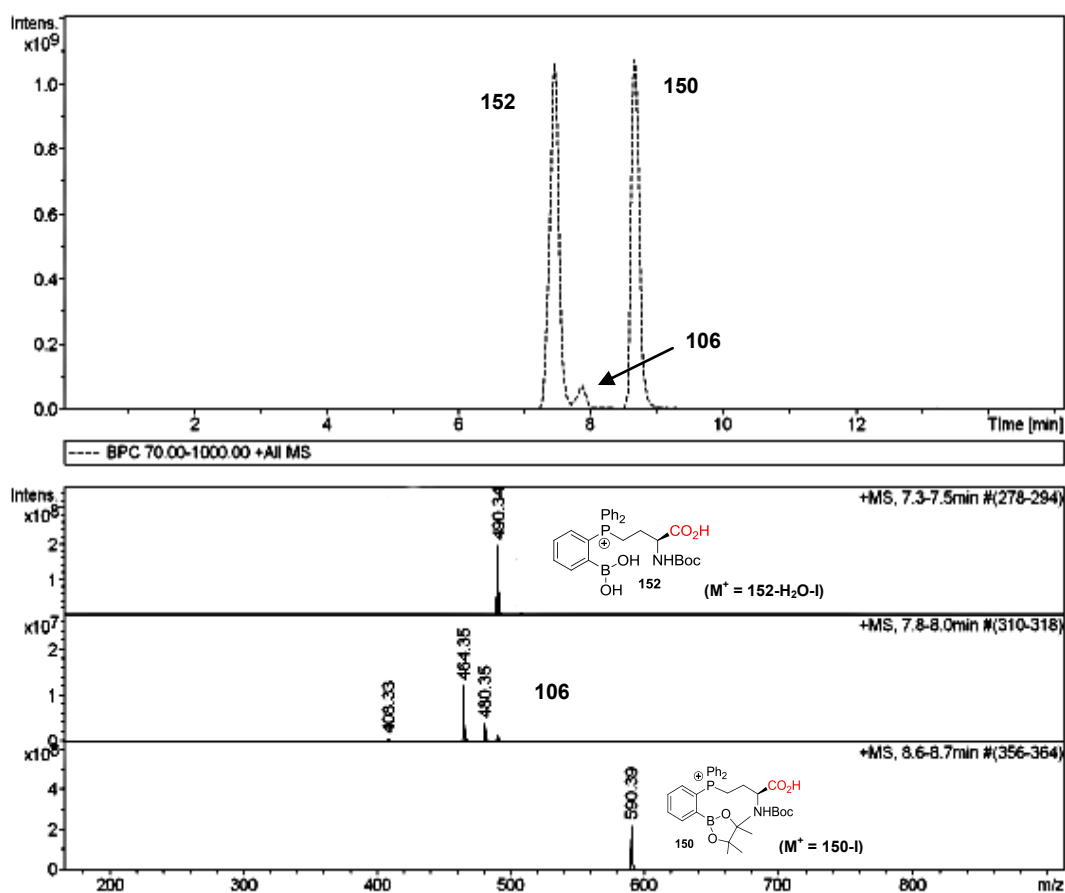


Figure 26: Analyse LC-MS du mélange après saponification

La pureté énantiomérique du sel de phosphonium boronaté d'acide aminé **150** a été vérifiée par dosage du trifluoroborate correspondant **203c** en présence de l'acide aminé **139**. Aucune racémisation n'est observée par saponification.

D'un autre côté, la déprotection du groupement Boc du sel de phosphonium **148** a été envisagée par utilisation d'acide trifluoroacétique en solution dans le dichlorométhane (**Schéma 60a**).¹¹⁷ Dans ces conditions, l'analyse RMN ^{31}P révèle la formation d'un mélange de sels de phosphonium, et une hydrolyse partielle du groupement boronate en acide boronique.

¹¹⁷ Müller, J.; Feifel, S. C.; Schmiederer, T.; Zocher, R.; Süßmuth, R. D. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 323.

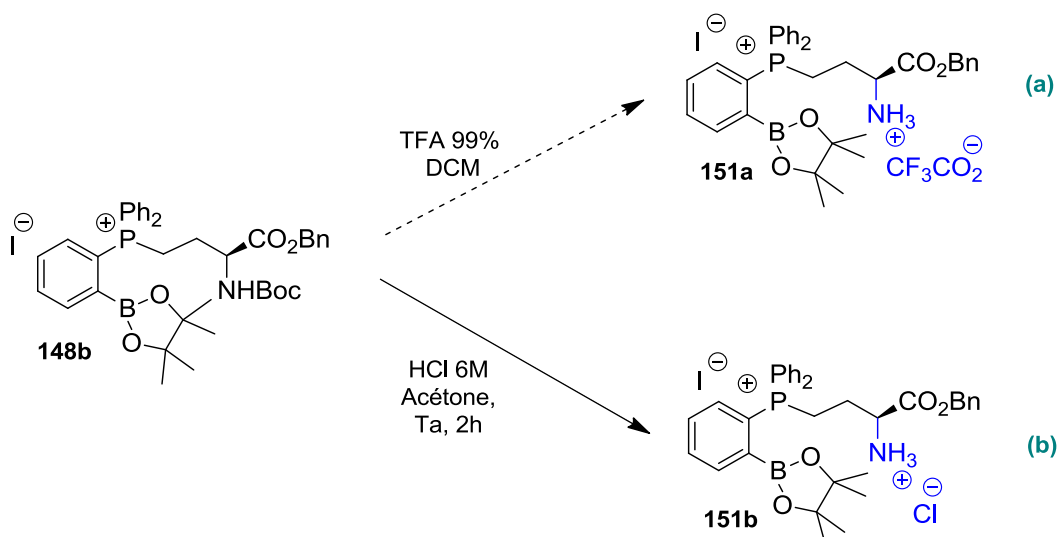


Schéma 60: Étude de déprotection de la fonction amine du sel 148b

Dans le cas où la déprotection est réalisée avec l'acide chlorhydrique (6M) en solution dans l'acétone à température ambiante, le sel de phosphonium est isolé sous forme de chlorhydrate avec 78% de rendement (**Schéma 60b**).¹¹⁸

II-1-2-3. Étude de couplage peptidique avec le sel de phosphonium 151b

Dans la perspective d'un greffage du sel de phosphonium boronaté **151b**, la faisabilité du couplage peptidique du groupement amino a été étudié (**Schéma 61**).

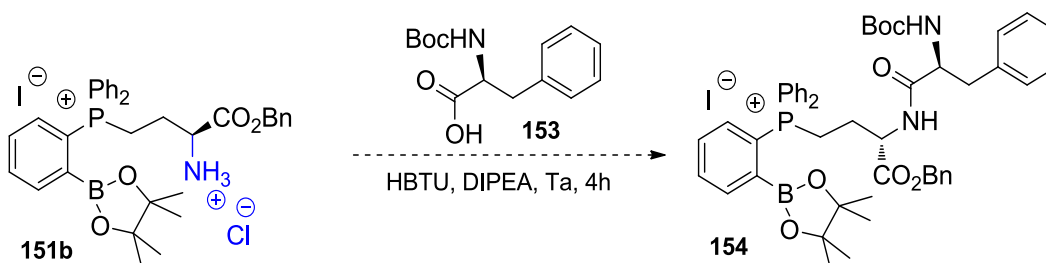


Schéma 61: Étude du couplage peptidique à partir du dérivé 151b

Ainsi, la réaction du sel de phosphonium **151b** avec le dérivé de la phénylalanine NHBoc **153** dans des conditions classiques d'un couplage peptidique (DIPEA, HBTU, DMF) durant 4 heures à température ambiante ne donne pas le dipeptide attendu **154**. Dans ce cas là, l'analyse RMN ³¹P a seulement montré la présence du produit de départ **151b**. D'autres méthodes de synthèse peptidique sont envisagées pour obtenir un tel couplage par le groupement amino du composé **151b**.

¹¹⁸ Nguyen, K. T.; Syed, S.; Urwyler, S.; Bertrand, S.; Bertrand, D.; Reymond, J-L. *ChemMedChem* **2008**, 3, 1520.

II-2. Seconde approche : synthèse de sels de phosphonium boronates fonctionnalisés (groupement prosthétique)

II-2-1. Réaction modèle avec la triphénylphosphine

II-2-1-1. Synthèse des sels de triphénylphosphonium fonctionnalisés 157 et 159

Afin de vérifier la faisabilité de cette approche, des réactions modèles ont été élaborées à partir de la triphénylphosphine et de groupements fonctionnalisés : d'une part, le bromure de 4-nitrobenzyle **155** et d'autre part, l'acide bromo-*p*-toluique **158**. Ces deux composés sont porteurs d'une fonction halogénure pour permettre la quaternisation et une fonction (protégée ou non) pour le couplage peptidique. De plus, la formation des sels de phosphonium peut être facilement suivie par RMN ^{31}P ou par RMN ^1H , avec l'apparition d'un doublet correspondant au signal du CH_2 couplant avec le phosphore.

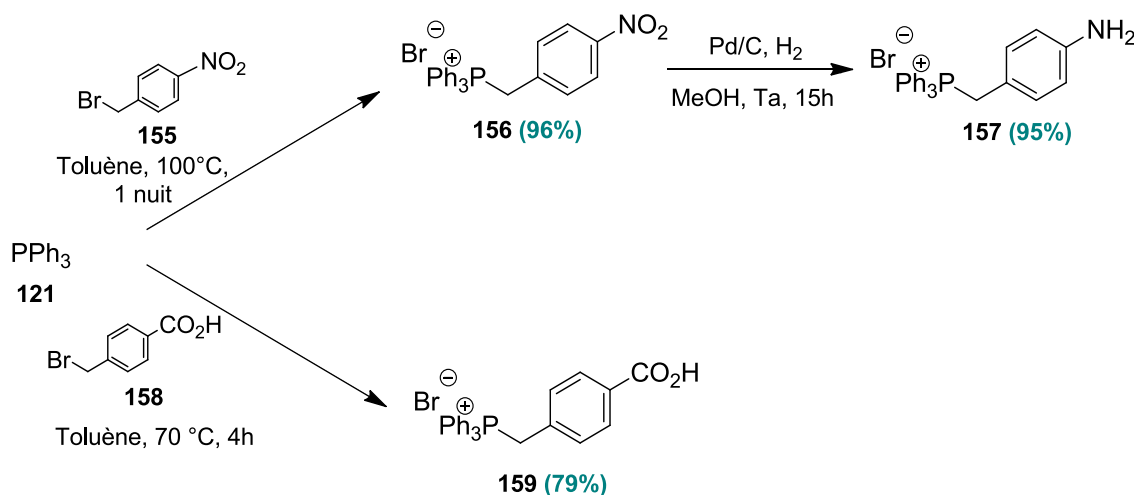


Schéma 62: Préparation des sels de triphénylphosphonium fonctionnalisés 157 et 159

D'après une procédure modifiée de la littérature,¹¹⁹ en partant du bromure de 4-nitrobenzyl **155**, la réaction avec la triphénylphosphine **121** dans le toluène à 100°C pendant 1 nuit donne le sel de phosphonium correspondant **156** avec 96% de rendement (**Schéma 62**). Ce composé a été complètement caractérisé et la présence du phosphonium est confirmée par RMN ^{31}P avec un signal à +23,9 ppm (**Figure 27**). Le spectre RMN ^1H du phosphonium **156**, présenté ci-après montre clairement le doublet à +5,95 ppm avec une constante de couplage de 15,6 Hz caractéristique de protons benzyliques couplés au phosphore.¹²⁰

¹¹⁹ Lawrence, N. J.; Liddle, J.; Jackson, D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **2002**, 2260.

¹²⁰ Kiddle, J. *J. Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 1339

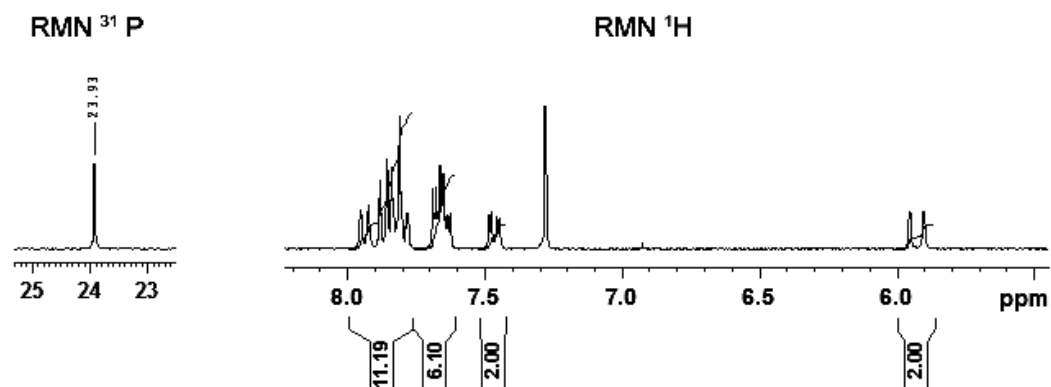


Figure 27: Analyses RMN du nitro phosphonium 156

Afin de réduire le groupement nitro du sel de phosphonium **156** en amine, une étude d'hydrogénation a été réalisée afin de vérifier que cette réaction n'entraîne pas de dégradation du sel de phosphonium au niveau du substituant benzylique, par coupure de la liaison P^+-CH_2 (**Tableau 3**).

Tableau 3: Étude d'hydrogénation du sel de nitro phosphonium 155

Entrée	Catalyseur [% molaire]	Pression Hydrogène [bar]	Solvant	Rendement [%]
1	Pd/C [2,5]	5	MeOH	80
2	Pd/C [5]	5	MeOH	95
3	Pd/C [2,5]	5	<i>i</i> PrOH	52
4	Pd/C [5]	10	<i>i</i> PrOH	10

Lorsque l'hydrogénation pallado-catalysée est réalisée dans le méthanol, le sel de phosphonium 4-amino benzyle **157** est obtenu avec des rendements atteignant 95% (**Tableau 3, Entrées 1-2**). Dans le cas où l'hydrogénation est effectuée dans l'isopropanol, une diminution significative du rendement est observée quelque soit la quantité de catalyseur et la pression d'hydrogène utilisées (**Tableau 3, Entrées 3-4**). L'analyse par RMN 1H montre la présence de *p*-toluidine, composé résultant de la décomposition du sel de phosphonium **157** par hydrogénolyse du groupement benzylique.

Dans des conditions plus douces (4 heures, à 70°C dans le toluène), l'acide bromotoluïque **158** réagit avec la triphénylphosphine pour conduire au sel de phosphonium correspondant **159** avec 79% de rendement (**Schéma 62**).¹²¹

¹²¹ Porcal, W.; Hernandez, P.; Aguirre, G.; Boiani, L.; Boiani, M.; Merlino, A.; Ferreira, A.; Di Maio, R.; Castro, A.; Gonzalez, M.; Cerecetto, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 2768.

II-2-1-2. Étude du couplage peptidique des sels de phosphonium fonctionnalisés 157 et 159

Dans le but de leur bioconjugaison, l'étude du couplage peptidique des sels de phosphonium fonctionnalisés avec différents aminoacides (**160**, **140**) convenablement protégés (benzyle, Boc...) a été réalisée (**Schéma 63**).

Deux méthodes de couplage peptidique classiques reposant sur l'activation de la fonction acide carboxylique, ont ainsi été testées sur le phosphonium **157** (**Schéma 63**).

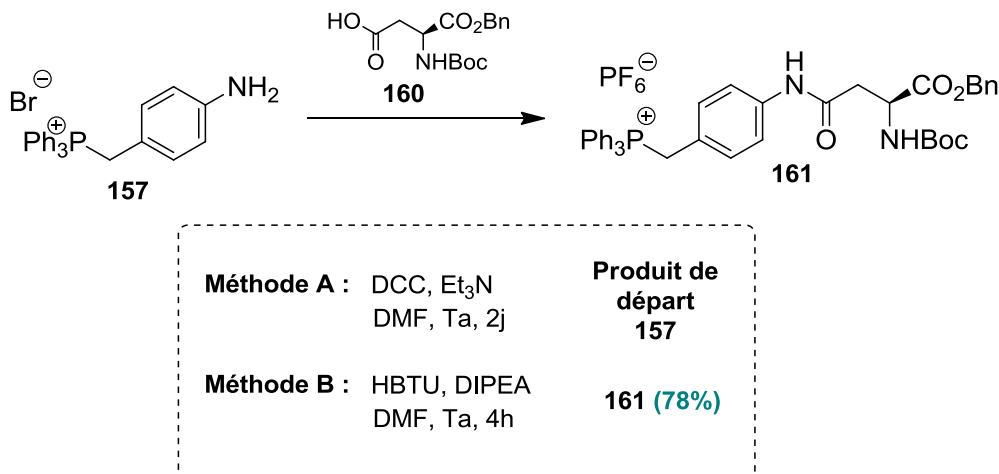


Schéma 63: Étude de couplage peptidique sur le phosphonium amino benzyl 157

L'utilisation du dicyclohexylcarbodiimide (DCC) comme agent de couplage, est l'approche traditionnelle la plus employée pour former la liaison peptidique. Ainsi, selon des conditions opératoires décrites par Himaja *et al.*,¹²² lorsque le DCC est mis à réagir avec l'acide aspartique protégé **160** et le sel de phosphonium **157** dans le DMF en présence de triéthylamine, l'analyse RMN ³¹P révèle la présence majoritaire du phosphonium de départ **157**.

Dans le cas où l'HBTU est utilisé comme agent de couplage, les conditions réactionnelles précédemment décrites (DMF, DIPEA, 4h) pour les études de bioconjugaison sur les sels de phosphonium boronates ont été appliquées à la synthèse du phosphonium amino **157**, et cette fois-ci le dérivé **161** est obtenu avec 78% de rendement. L'analyse par RMN ³¹P du sel de phosphonium montre en plus d'un singulet pour le phosphonium, la présence d'un heptuplet, correspondant à l'anion PF₆⁻ provenant de l'HBTU.

En partant du sel de phosphonium porteur de la fonction acide libre **159**, la réaction de couplage avec le chlorure d'alaninate de méthyle **140** en présence d'HBTU conduit au phosphonium aminoester **162** avec 86% de rendement (**Schéma 64**).

¹²² Sreekanth, K.; Himaja, M.; Anand, R.; Karigar, A.; Sikarwar Mukesh, S. *IRJP*, **2011**, 2, 186.

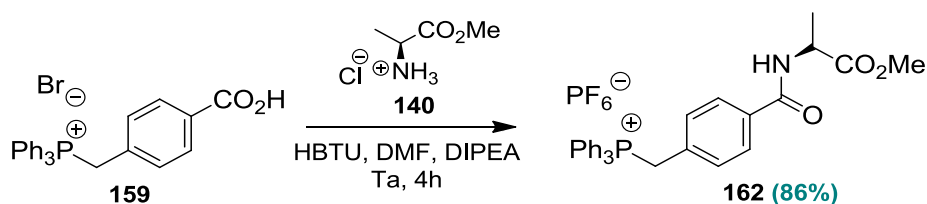


Schéma 64: Synthèse du phosphonium dérivé de l'alanine 162

Il ressort de ces résultats que la stratégie de synthèse qui consiste à fonctionnaliser le sel de phosphonium, permet d'obtenir leur greffage à un aminoacide aussi bien par la fonction acide carboxylique que le groupement amine. L'extension de ces résultats aux sels de phosphonium *o*-boronates est maintenant abordée dans le paragraphe suivant.

II-2-2. Synthèse des sels de phosphonium boronates fonctionnalisés

Dans des conditions analogues de quaternisation, les bromures de phosphonium **163** et **165** sont préparés avec 85 et 90% respectivement par réaction de la phosphine *o*-boronaté **125** avec le bromure de 4-nitrobenzyle **155** ou l'acide bromo-*p*-toluique **158** par chauffage dans le toluène (Schéma 65).

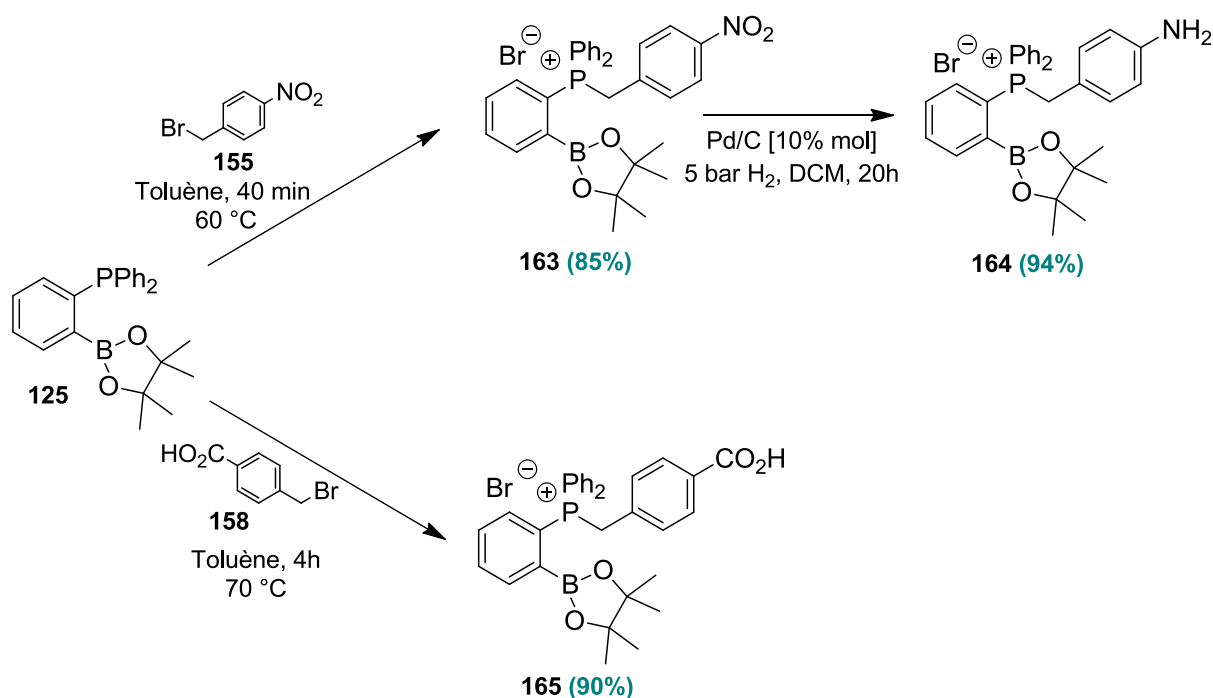


Schéma 65: Synthèse des sels de phosphonium boronates 163, 164 et 165

Afin de réduire le groupement nitro du composé **163** dans des conditions qui ne risquent pas de dégrader le groupement boronate, nous avons réalisé l'hydrogénation dans le dichlorométhane, solvant *a priori* moins nucléophile. Dans ces conditions, Pd/C [10% molaire] sous 5 bar d'hydrogène, l'aminophosphonium **164** est isolé avec 94% de rendement (Schéma 65).

Les conditions de couplage peptidique utilisées précédemment ont alors été appliquées aux sels de phosphonium boronates **164** et **165** avec les aminoacides protégés **160** et **167** correspondants (**Schéma 66**). L'alaninate de méthyle **167** est préparé par réaction du chlorhydrate **140** avec le DABCO.

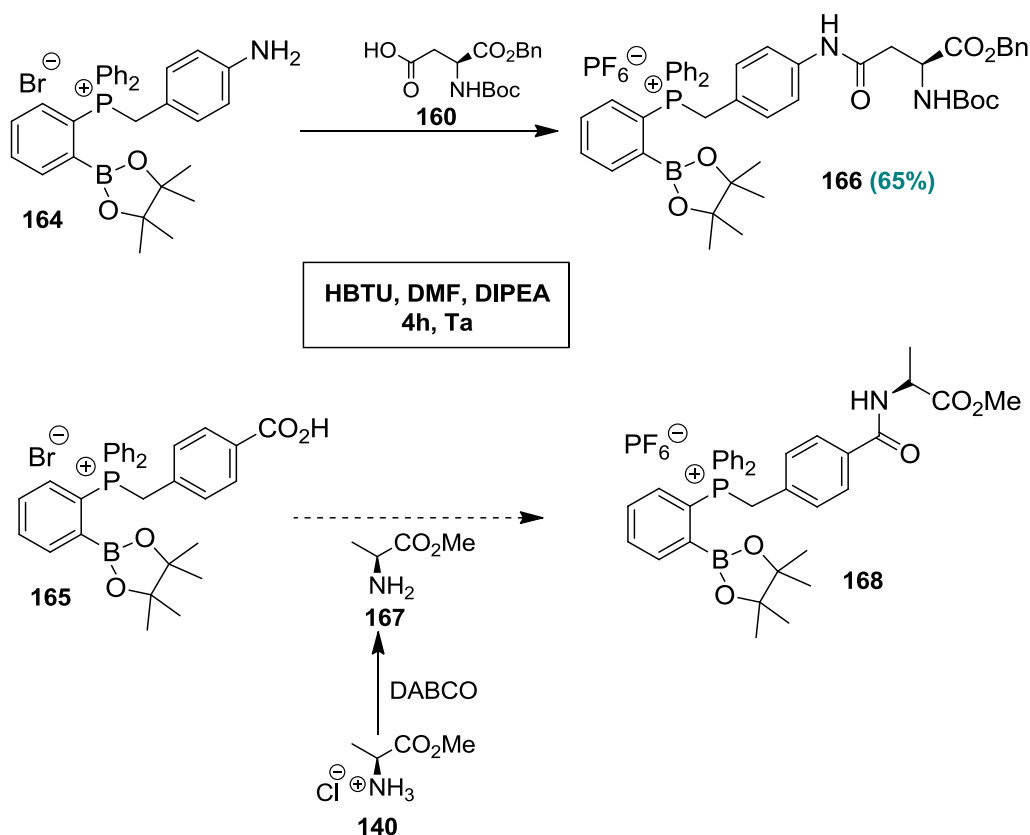


Schéma 66: Étude de couplage peptidique des phosphoniums boronates 164 et 165

En partant du sel de l'amino phosphonium **164**, le couplage de l'aspartate de benzyle **160** conduit au dérivé phosphonium **166** avec 65% de rendement, après plusieurs lavages à l'eau suivi d'une précipitation dans un mélange dichlorométhane/éther (**Schéma 66**).

Par contre, lorsque le phosphonium **165** est mis à réagir avec l'alaninate **167** dans les même conditions de couplage (HBTU, DIPEA, DMF), de l'oxyde de phosphine-boronate se forme, caractérisé par un signal à +32 ppm en RMN ^{31}P .⁹⁵ Cela s'explique par une dégradation du sel de phosphonium **165** dans ces conditions, avec certainement une coupure de la liaison P-C au niveau du groupement benzylique.

Un autre essai a été réalisé, en remplaçant l'HBTU par le PyBOP. Après 3 heures de réaction, les analyses ont seulement montré la présence du phosphonium initial **165** et d'oxyde de phosphine provenant de la dégradation du produit de départ.

Au final, lors des études de couplage, ces deux sels de phosphonium ont présenté des comportements différents, ce qui nous fait penser que dans le cas de **165**, la fragilité de la liaison est exaltée par l'appauvrissement électronique de l'aromatique à cause de la fonction acide carboxylique.

II-2-3. Synthèse du sel de phosphonium boronate dérivé du *t*-butyl(3-iodopropyl)carbamate

La stratégie de préparation du sel de phosphonium boronate fonctionnalisé a été étendue à un substituant amino aliphatique: le *t*-butyl(3-iodopropyl)carbamate **169**. L'intérêt de ce dérivé iodé réside dans le fait qu'il est facilement synthétisable, et qu'il porte un groupement amino protégé par un Boc dont la déprotection est compatible avec un groupement pinacol boronate. La synthèse du dérivé iodé **169** est réalisée en 2 étapes avec 75% de rendement à partir de l'amino alcool **170**. L'amine **170** est d'abord protégée par un groupement *tert*-butyloxycarbonyl, s'en suit la substitution nucléophile sur le groupement hydroxyle par un iodure pour permettre la quaternisation (**Schéma 67**).¹²³

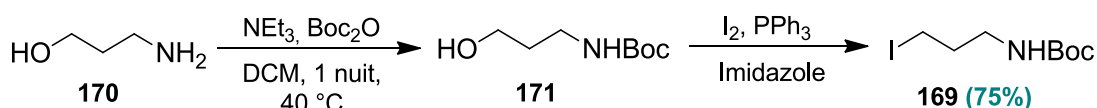


Schéma 67: Synthèse du *t*-butyl(3-iodopropyl)carbamate **169**

La quaternisation de la phosphine boronate **125** avec le dérivé iodé **169** est effectuée dans l'acétonitrile à 60°C pendant 1 nuit pour donner le sel de phosphonium **172** avec 77% de rendement. Après déprotection du groupement Boc en milieu acide dans l'acétone, à température ambiante, le sel de phosphonium **173** est isolé avec un rendement global de 65% (**Schéma 68**).

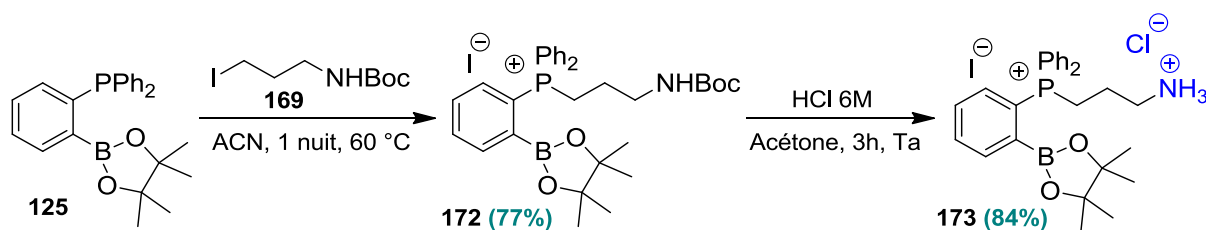


Schéma 68: Préparation du sel d'amino phosphonium boronaté **173**

La présence du groupement phosphonium-boronate a été caractérisée par RMN ³¹P et ¹¹B montrant des signaux respectivement à +27,8 et +29,8 ppm pour **172** et +26,8 et +29,9 ppm pour **173**. La **Figure 28** ci-après montre les spectres protons des sels de phosphonium **172** et **173** avec la disparition du singulet à +1,5 ppm dans le cas de **173**, caractéristique du groupe *t*-butyloxycarbonyl. Il est intéressant de remarquer que dans les conditions de déprotection acide, le boronate n'est pas hydrolysé puisque le signal du groupe pinacol se retrouve à 1 ppm pour les deux composés (**Figure 28**).

¹²³ Enschedé, C.; Hesse, M. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 1659.

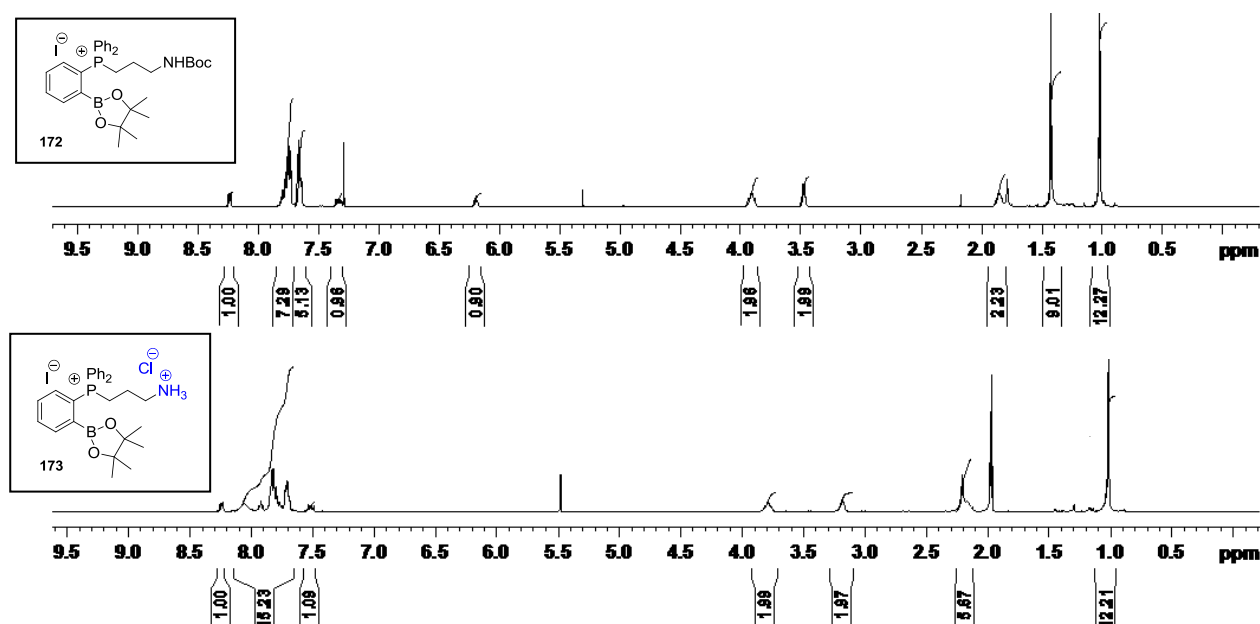


Figure 28: Spectres RMN ^1H des sels de phosphonium boronates 172 et 173

Une tentative de couplage du sel de phosphonium 173 avec l'aspartate de benzyle 160 a été réalisée en utilisant l'HBTU et la DIPEA. Après 4 heures à température ambiante, le phosphonium aminoester de benzyle 174 est isolé avec 45% de rendement, après traitement par lavage et par chromatographie sur colonne (**Schéma 69**).

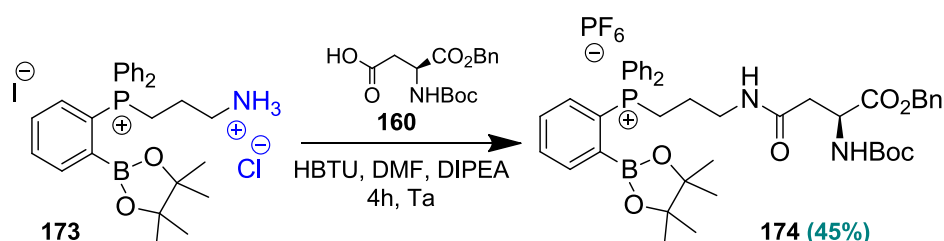


Schéma 69: Synthèse du sel de phosphonium boronate dérivé de l'aspartate de benzyle 174

II-3. Études des modifications structurales au niveau des atomes de phosphore et de bore

Afin de pouvoir disposer de pinces à fluorures P,B modulables par changement de leur lipophilie, de l'encombrement stérique ou de leur fonctionnalité, l'étude des modifications structurales par changement des substituants au niveau des atomes de bore et phosphore a été envisagée.

II-3-1. Modification des substituants au niveau de l'atome de bore

La synthèse des phosphoniums boronates dérivés d'acide aminé décrite précédemment a été étendue à la phosphine borane **175** porteuses de deux groupements mésityles sur le bore, dont la préparation est similaire à celle de la phosphine boronate **125**.

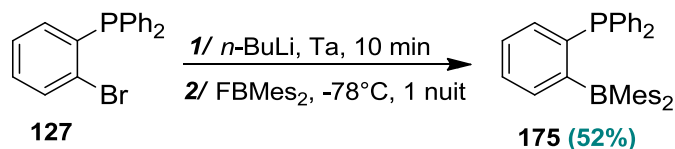


Schéma 70: Synthèse de la phosphine borane 175

Cette phosphine est préparée à partir d'*ortho*-bromo phényl diphenylphosphine **127** (**Schéma 70**). Après réaction de *n*-BuLi et échange halogène-métal, l'anion formé est piégé avec le fluorodimésitylborane pour donner la phosphine borane **175** avec un rendement correct.⁹⁴

Cependant, dans les conditions de quaternisation mises au point précédemment, après 1 nuit à 76°C dans le toluène en présence de l'iodo aminoester de benzyle **105b**, la condensation de la phosphine borane **175** ne se produit pas (**Schéma 71**).

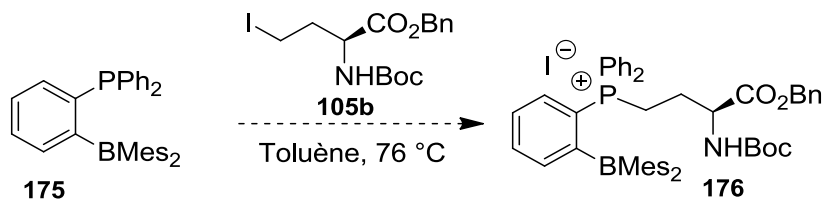
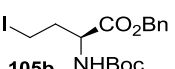
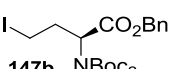
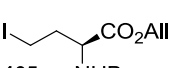


Schéma 71: Tentative de quaternisation de la phosphine borane 175

Différents essais de quaternisation de la phosphine **175** ont alors été réalisés afin d'étudier l'influence du solvant, de la température et du dérivé iodé d'acide aminé. Les résultats sont rassemblés dans le **Tableau 4** suivant.

Tableau 4: Étude de la quaternisation de l'ortho phosphine dimésitylborane 175

Entrée	Iodo amino ester	Conditions	Observations
1		PhCl, 90°C, 2 jours	Produit de départ 175
2	105b	Sans solv., 90°C, 2 jours	Produit de départ 175
3		CHCl3, reflux, 1 nuit	Mélange de produits
4	147b	Sans solv., 80°C, 1 jour	Mélange de produits
5		DMF, Ta, 7 jours	Produit de départ 175
6	105a	DMF, 140°C, 1 nuit	Mélange de produits dont 177

Plusieurs essais de quaternisation ont été réalisés en utilisant les iodo aminoesters de benzyle **105b** et **147b**. Les résultats sont variables, et conduisent soit au produit de départ **175** (Tableau 4, entrées 1-2) ou bien à des mélanges de sels de phosphonium avec des signaux à 25 ppm en RMN ^{31}P difficilement séparables (Tableau 4, entrées 3-4). Lorsque la quaternisation est effectuée avec le iodo aminoester d'allyle **105a** à 140°C dans le DMF (Tableau 4, entrée 6), un mélange de sels de phosphonium est obtenu, parmi lequel le sel de phosphonium **177** a pu être isolé par cristallisation. La structure de ce composé a été établie par diffraction des rayons X, et montre la formation d'un sel de phosphonium d'allyle (Figure 29).

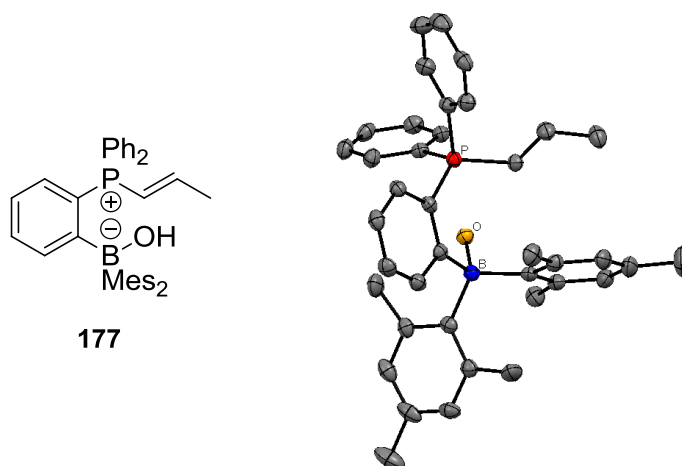


Figure 29: Structure par rayons X du sel 177 (H omis)

La formation de ce sel de phosphonium peut s'expliquer par une attaque nucléophile de la phosphine sur l'ester d'allyle suivie d'une isomérisation dans les conditions de chauffage. Suite à ces résultats, la quaternisation de la phosphine borane a été envisagée par réaction avec un des halogénures fonctionnalisés, le bromure de 4-nitrobenzyle **155** (Schéma 72).

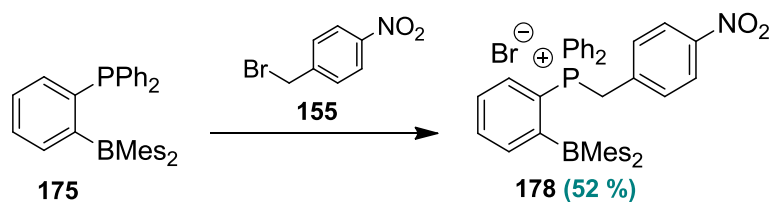


Schéma 72: Préparation du sel de phosphonium borane 178

Différentes conditions de réactions ont été testées. L'ensemble des résultats est présenté dans le **Tableau 5** ci après.

Tableau 5: Étude de la quaternisation de la phosphine borane 175

Entrée	Molécule	Conditions	Observations
1	 155	Toluène, 70°C, 72 h	Dégradation du borane
2		EtOH/ACN, 60°C, 24 h	Dégradation du borane
3		Acétone, 51°C, 120 h	Dégradation du borane
4		CHCl ₃ , 58°C, 72 h	52 %
5	 179	CHCl ₃ , 58°C, 24 h	65 %
6		DCM, 35°C, 24 h	37 %

Lorsque la quaternisation est réalisée dans des solvants tels que le toluène, l'éthanol, l'acétonitrile et l'acétone, la formation d'un sel de phosphonium est observée mais ne correspond pas au produit attendu (**Tableau 5, entrées 1-3**). En effet, si l'analyse par RMN ¹H du sel formé montre bien un doublet à +5,02 ppm caractéristique d'un substituant benzylique, en revanche les signaux caractéristiques des groupements mésityles ont disparu.

Au final, le sel de phosphonium **178** est obtenu avec 52% de rendement par quaternisation de la phosphine **175** avec le bromure **155** dans le chloroforme pendant 72h (**Tableau 5, entrée 4**). La présence du sel de phosphonium est confirmée par un singulet à +24,2 ppm en RMN ³¹P, comparable à ce qui est décrit dans la littérature.⁸⁶

Afin de diminuer le temps de réaction, la quaternisation de la phosphine borane **175** a été envisagée avec l'iodure de 4-nitrobenzyle **179**, préparé par réaction du bromo nitrobenzyle **155** avec l'iodure de sodium à reflux dans l'acétone (**Schéma 73**).¹²⁴

¹²⁴ Poissonier-Durieux, S.; Ettaoussi, M.; Pérès, B.; Boutin, J. A.; Audinot, V.; Bennejean, C.; Delagrangé, P.; Caignard, D. H.; Renard, P.; Berthelot, P.; Lesieur, D.; Yous, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8339.

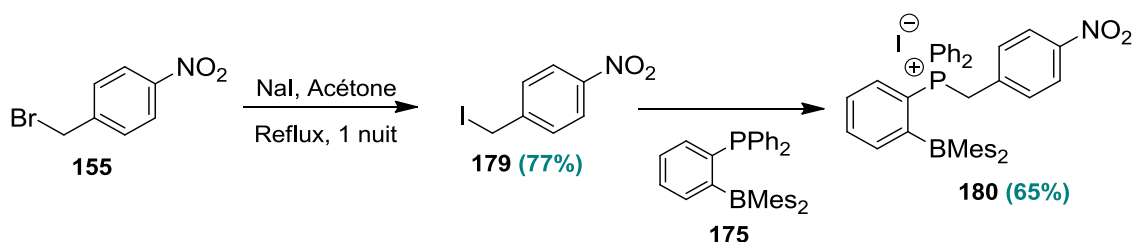


Schéma 73: Quaternisation de la phosphine borane 175 par l'iodure de p-nitrobenzyle 179

Ainsi, lorsque la quaternisation de la phosphine **175** est réalisée dans le chloroforme ou le dichlorométhane avec l'iodure **179**, le sel de phosphonium **180** est obtenu avec des rendements corrects après 24 heures (**Tableau 5, entrées 5-6**). Au vu de ces résultats, l'utilisation d'iodure de nitrobenzyle est préférable afin d'éviter des conditions de chauffage prolongées.

Néanmoins, comme les sels de phosphonium borane se sont révélés plus fragiles du fait de la dégradation du groupement mésityle borane, l'utilisation de ces composés pour les réactions de couplage a été abandonnée.

II-3-2. Modification des substituants au niveau de l'atome de phosphore

Dans le but de permettre des modifications structurales variées, le changement de substituants au niveau de l'atome de phosphore des phosphines boronates et des sels de phosphonium qui en découlent a été étudié. En effet, cette modification peut permettre d'enrichir ou d'appauvrir électroniquement le phosphonium, ce qui peut jouer sur la stabilité de telles espèces. Il faut également remarquer que le changement d'un phényl au niveau du phosphore dans les composés préparés entraîne la formation d'un centre de chiralité.

Sachant que la synthèse d'*ortho* bromophényl phosphine P-chirogénique est bien maîtrisée dans l'équipe, la préparation de phosphines boronates et de pinces à fluorures porteuses de la chiralité sur le phosphore a donc été envisagée.

II-3-2-1. Préparation de l'*o*-bromo phényl phosphine borane P-chirogénique **186**

Notre choix s'est portée sur la phosphine chirale *o*-bromée **186**, dont un des substituants aryle du phosphore présente un groupement donneur de type méthoxy, ce qui pourrait stabiliser l'entité phosphonium déficitaire en électrons.

Ainsi, l'*o*-anisyl phényl phosphine borane *o*-bromée **186** a été obtenue selon une méthodologie de synthèse mise au point au laboratoire à partir d'*o*-dibromobenzène **126** et

de la phosphine secondaire borane chirale **184** (Schéma 74).¹²⁵ La phosphine secondaire **184** est ainsi déprotonée par du *n*-BuLi pour former le phosphure correspondant **185**. L'excès de *n*-BuLi (0,2 éq.) promeut l'échange halogène-métal avec le dibromobenzène **126**, générant ainsi l'anion **181** puis le benzyne **182** par élimination de LiBr. La réaction du phosphure borane **185** avec l'aryne donne alors la phosphine borane lithiée **183**, qui par échange halogène-métal avec le dibromobenzène **126**, forme d'un côté, l'*o*-bromo phényl phosphine borane **186** correspondante et d'un autre côté, l'anion **181** qui régénère l'aryne **182** pour la suite de la réaction (Schéma 74).¹²⁵

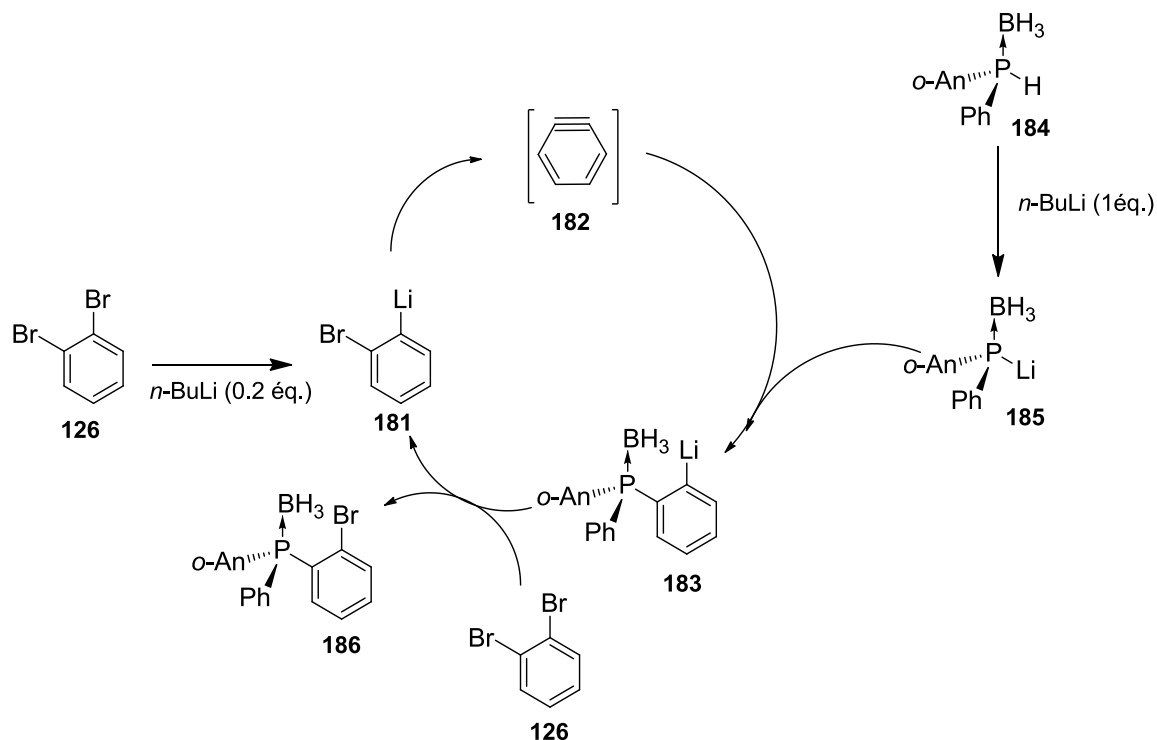


Schéma 74: Synthèse de l'*o*-bromo phényl phosphine borane *P*-chirogénique **186**

II-3-2.2. Synthèse des phényl phosphines *o*-boranyl, boronato, trifluoroborato *P*-chirogéniques

Afin de permettre la fonctionnalisation de la phosphine borane chirale **186** par un groupement borane ou boronate en position *ortho*, il est nécessaire de procéder à sa décomplexation pour une meilleure réactivité.¹²⁵

Ainsi, la décomplexation de la phosphine borane **186** est facilement obtenue par réaction d'échange avec le DABCO dans le toluène à température ambiante, pendant 4 heures pour donner la phosphine *P*-chirogénique libre **187** avec 90% de rendement et 99% d'excès énantiomérique (Schéma 75). Après échange halogène-métal de la phosphine **187** avec le *n*-BuLi, l'anion intermédiaire formé réagit avec des agents borés électrophiles tels que le 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetraméthyl-1,3,2-dioxaborolane ou le fluorodimésityl borane

¹²⁵ Bayardon, J.; Laureano, H.; Diemer, V.; Dutartre, M.; Das, U.; Rousselin, Y.; Henry, J-C.; Colobert, F.; Leroux, F. R.; Jugé, S. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 5759.

pour donner les phosphines boranes **188** et **190** avec 77 et 10% de rendement respectivement (**Schéma 75**).¹²⁶

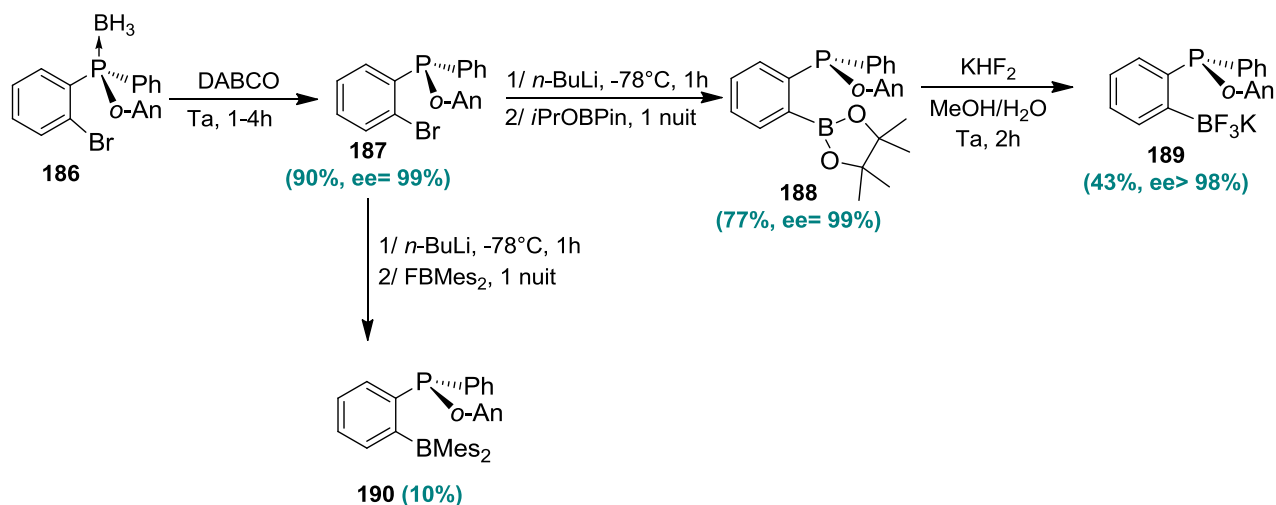


Schéma 75: Préparation des phosphines chirales 188, 189 et 190

Le faible rendement obtenu pour la phosphine *o*-borane **190** s'explique par une dégradation en solution par oxydation. Comme cette mauvaise stabilité limite de ce fait l'utilisation de la phosphine **190** pour la préparation de sels de phosphonium dérivés d'acides aminés et le piégeage ultérieur de fluorures, son étude ne sera pas poursuivie.

Avant de commencer les premières études de quaternisation, nous avons voulu vérifier la faisabilité de la fluoration sur l'*o*-boronate phényl phosphine **188**. Ainsi, par traitement avec KHF₂ dans un mélange eau/méthanol, l'*o*-trifluoroborate phényl phosphine chirale **189** est obtenu avec 43% de rendement (**Schéma 75**).

L'analyse par HPLC sur colonne chirale de la phosphine *o*-boronate **188** n'a montré aucune racémisation lors de sa synthèse à partir de **187**. Dans le cas de l'*o*-trifluoroborate phényl phosphine **189**, l'excès énantiomérique a été déterminé par RMN ³¹P du complexe obtenu par réaction avec le complexe de palladium chirale **191**¹²⁷ (**Figure 30**) et s'élève à 98%.

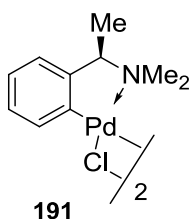


Figure 30: Complexe de (R)-(+)-di-μ-chlorobis{2[1-(diméthylamino)éthyl]phényl-C,N}dipalladium

¹²⁶ a) Jugé, S.; Bayardon, J.; Rémond, E.; Laureano, H.; Henry, J. -C.; Collobert, F.; Leroux, F. *Intern. Patent* **2011**, US 61/506,291; FR 11 56686. b) Bayardon, J.; Bernard, J.; Malacea-Kabbara, R.; Rousselin, Y.; Jugé, S. *Org. Lett. (En préparation)*.

¹²⁷ Dunina, V. V.; Kuz'mina, L. G.; Kazakova, M. Yu.; Grishin, Yu. K.; Veits, Yu. A.; Kazakova, E. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 2537.

II-3-2-3. Étude de quaternisation de la phényl phosphine borane P-chirogénique **188** avec le iodo aminoester de benzyle **105b**

Cette nouvelle phosphine o-boronate chirale **188** a été utilisée pour la préparation d'une pince à fluorure **192** dérivée d'acide aminé qui présente un second centre de chiralité sur l'atome de phosphore.

Dans les conditions de réactions mises au point précédemment, la quaternisation de la phosphine **188** avec le iodo ester de benzyle **105b** conduit à la formation du sel aminoester de benzyle correspondant **192** (Schéma 76). Cependant, l'analyse par RMN indique la formation de 2 épimères dans le ratio 80:20 qui peut s'expliquer par racémisation de la phosphine P-chirogénique par chauffage, comme Mislow *et al.* l'a démontré.¹²⁸ En effet, lorsque la réaction est réalisée à température ambiante, le sel de phosphonium **192** est isolé avec un rendement de 82% dans un meilleur rapport diastéréoisomérique (90:10) après 18h.

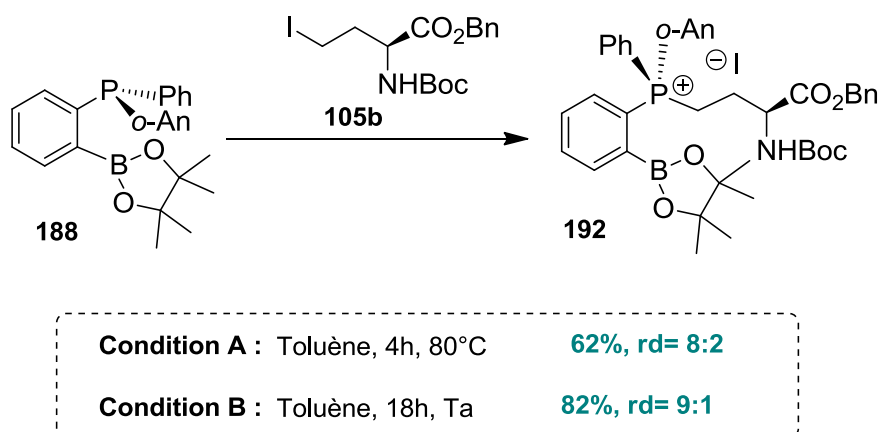


Schéma 76: Préparation d'un sel de phosphonium o-boronate P-chirogénique **192**

III. Stratégie de synthèse des sels de phosphonium boronates fonctionnalisés par un groupement cationique

L'utilisation de sels de phosphonium en imagerie cardiovasculaire a fait l'objet de récents travaux,^{87,88,89,129} du fait de leurs accumulations au sein du système mitochondrial qui est globalement chargé négativement. Très logiquement, il était intéressant d'étudier le potentiel des sels de phosphonium boronates (pinces à fluorures) pour l'étude des pathologies mitochondriales, et cela a été réalisé en collaboration avec l'équipe de Pr. S. Archibald du Positron Emission Tomography Research Centre de l'Université de Hull. Si dans un premier temps, l'étude a porté sur les sels de phosphonium boranes dérivés d'acides aminés, dans un deuxième temps, il a été envisagé de synthétiser des pinces à

¹²⁸ Baechler, R. D.; Mislow, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 3090.

¹²⁹ Min, J. -J.; Biswal, S.; Deroose, C.; Gambhir, S. S. *J. Nucl. Med.* **2004**, 45, 636.

fluorures fonctionnalisées par un groupement cationique, tels qu'ammonium ou phosphonium pour renforcer l'interaction avec le système mitochondrial. La synthèse de ces composés est maintenant abordée.

III-1. Synthèse des phosphoniums boronates porteurs du groupement ammonium

La synthèse des sels de phosphonium boronates/ ammonium **195**, **197** et **199** se décompose en deux étapes à partir du 1,3-diiodopropane **193** (Schéma 77). Le diiodopropane **193** a été choisi afin de permettre la synthèse des sels de phosphonium tels que **195**, **197** et **199** ayant deux contre-anions identiques et éviter la formation de mélange par échange d'halogénures. De plus, la mono-quaternisation du diiodopropane par une amine a déjà été rapportée et ce même dans le cas de temps de réaction prolongés (> 6 jours).¹³⁰

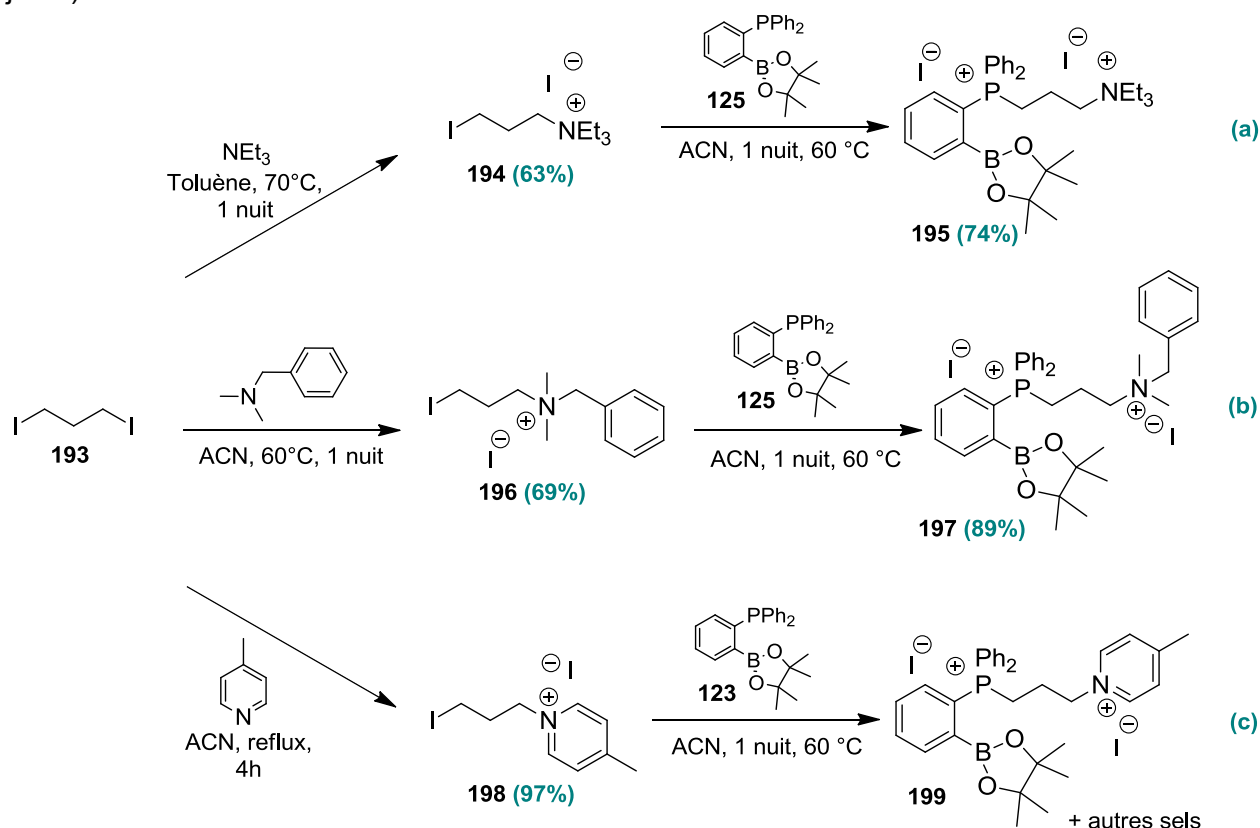


Schéma 77: Préparation des sels de phosphonium boronates/ ammonium **195, **197** et **199****

Plusieurs amines ont été testées comme reporté ci-dessus. En partant d'un mélange équimolaire de diiodopropane **193** et de triéthylamine, la quaternisation est réalisée par chauffage à 70°C pendant 1 nuit dans le toluène. Le sel de triéthylamine **194** est ainsi isolé par précipitation avec 63% de rendement (Schéma 77a).

¹³⁰ Deligeorgiev, T.; Vasilev, A.; Tsvetkova, T.; Drexhage, K. -H. *Dyes and Pigments* **2007**, 75, 658.

Dans le cas de la *N*-benzyl-*N,N*-diméthylamine et pour des raisons de solubilité, le sel d'ammonium **196** est préparé avec un bon rendement, par chauffage à 60°C dans l'acétonitrile avec le diiodopropane **193** (Schéma 77b).

Cette synthèse a été par la suite étendue à une amine cyclique de type pyridine (Schéma 77c). Ainsi, la 4-picoline est quaternisée par le diiodopropane au reflux de l'acétonitrile pendant 4 heures pour conduire au sel de 4-picolinium **198**¹³¹ correspondant avec 97% de rendement.

Les iodures d'ammonium **194** et **196** sont utilisés ensuite pour préparer les sels de phosphonium boronates correspondants **195** et **197** par quaternisation avec la phosphine boronate **125**. Cette seconde quaternisation est effectuée dans l'acétonitrile à 60 °C durant 1 nuit, et conduit aux sels de phosphonium attendus avec respectivement des rendements de 74 et 89% (Schéma 77a, b). La présence des sels de phosphonium a été confirmée avec des signaux respectivement à +27,5 et +27,3 ppm en RMN ³¹P.

Dans le cas de l'iodure de picolinium **198**, la quaternisation de la phosphine boronate **125** conduit au produit attendu (+27,5 ppm) accompagné d'un second sel de phosphonium identifié en RMN ³¹P par un signal à +26,2. Ce résultat s'explique certainement par la formation du sel de diphosphonium/boronate par substitution de la picoline (Schéma 77c).

III-2. Synthèse du sel de phosphonium/ boronate porteur d'un groupement phosphonium

La synthèse du diphosphonium boronate **201** a été envisagée de manière similaire à ce qui a été décrit au paragraphe précédent pour les dérivés ammoniums. Ainsi, la réaction d'un mélange équimolaire de triphénylphosphine et de diiodopropane **193** dans le toluène à 70°C durant 1 nuit conduit à l'iodopropyl triphénylphosphonium **200** avec 66% de rendement (Schéma 78).¹³²

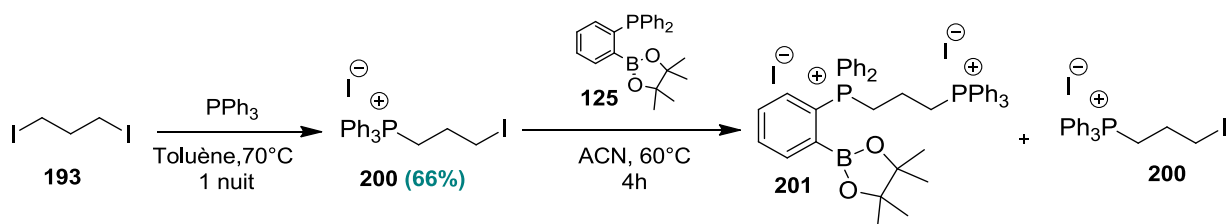


Schéma 78: Tentative de synthèse d'un sel de phosphonium boronate/phosphonium 201

La quaternisation de la phosphine boronate **125** avec l'iodo phosphonium **200** est réalisée par chauffage dans l'acétonitrile pendant 4 heures avec un léger excès de phosphine boronate **125** pour favoriser la réaction (Schéma 78). Dans ce cas, l'analyse

¹³¹ Murphy, J. A.; Sherburn, M. S. *Tetrahedron* **1991**, 47, 4077.

¹³² Dyer, G.; Roscoe, J. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 4098.

RMN ^{31}P du brut de réaction montre deux doublets +24,2 ppm et +26,6 ppm, caractéristique du sel bis-phosphonium **201** attendu, mais accompagné d'un reste de phosphonium **200** de départ (+27,0 ppm). La modification du rapport phosphonium iodé **200**/ phosphine boronate **125** (1:1.2 à 1:3) et du temps de réaction (jusqu'à 24h) n'ont pas permis d'obtenir proprement le sel de phosphonium boronate/phosphonium **201**, y compris après purification par chromatographie.

La synthèse du sel de phosphonium **201** a alors été étudiée avec une séquence réactionnelle inverse, en quaternisant tout d'abord la phosphine boronate **125**, puis la triphénylphosphine. Le phosphonium boronate **202** est obtenu avec un très bon rendement (91%) par condensation d'un mélange équimolaire de phosphine boronate **125** avec le diiodopropane **193** dans le toluène en 4 heures (**Schéma 79**).

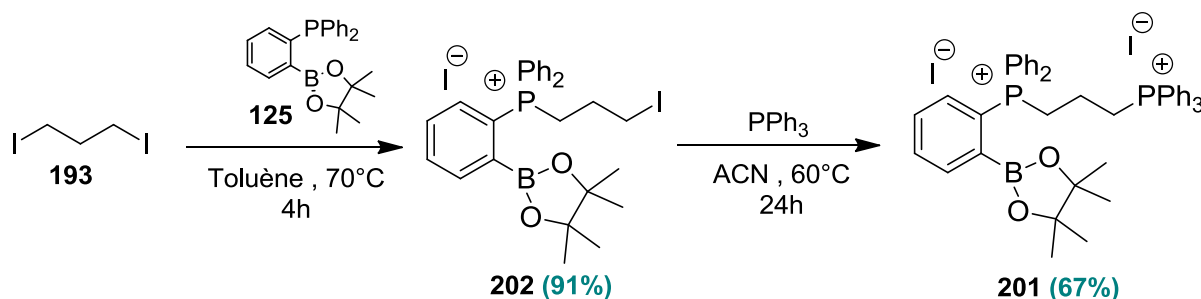


Schéma 79: Préparation du diphosphonium 201

Finalement, la quaternisation de la triphénylphosphine avec le dérivé iodé **202** par chauffage à 60°C dans l'acétonitrile donne le diphosphonium **201** pur avec 67% de rendement (**Schéma 79**). Le spectre RMN ^{31}P du bis-phosphonium **201** se présente sous la forme de deux doublets à +24,1 et +26,6 ppm, avec une constante de couplage de 10,9 ppm (**Figure 31**). La valeur du couplage phosphore-phosphore (J_{P-P}^d) observée pour le dérivé **201** est en accord avec celle décrite dans la littérature.¹³³

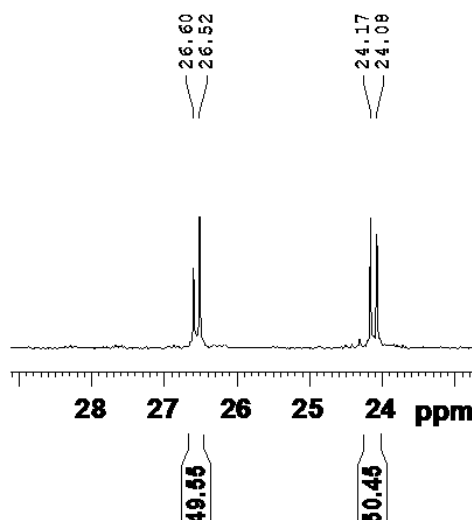


Figure 31: Spectre RMN ^{31}P du sel de phosphonium boronate/phosphonium 201

¹³³ Moiseev, D. V.; Patrick, B. O.; James, B. R.; Hu, T. Q. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 9389.

IV. Conclusion

Ce chapitre a mis en valeur la synthèse de sels de phosphonium boronates dérivés d'aminoacides ou fonctionnalisés réalisée selon deux approches.

Dans la première, la quaternisation de la phosphine boronate avec des β -iodo aminoacides/ esters et des γ -iodo aminoesters est réalisée stéréosélectivement et avec succès (55 - 88%). La pureté énantiomérique des sels de phosphonium boronates a été contrôlée par RMN ^{31}P en utilisant différents réactifs chiraux d'énantiodifférentiation (amine chirale, BINPHAT...). La saponification des aminoesters donne les dérivés avec la fonction acide libre, tandis que l'acidolyse par HCl mène à l'amine correspondante sous forme de chlorhydrate, tout en gardant la fonction boronate, ce qui permet d'envisager un couplage ultérieur. Des essais préliminaires de couplage avec des aminoacides sont encore en cours et devraient permettre d'accéder aux premières pinces dipeptides.

Dans la seconde approche, la quaternisation de phosphines boronates a été réalisée par réaction avec différents halogénures fonctionnalisés, suivie de la conjugaison avec un aminoacide. La faisabilité de cette approche a tout d'abord été mise au point avec la triphénylphosphine, et les phosphoniums correspondants ont été obtenus avec des rendements globaux de 68 et 71% en deux ou trois étapes. Cette méthode a ensuite été appliquée à la phosphine *o*-boronate pour préparer des sels de phosphonium boronates fonctionnalisés par un substituant porteur d'une amine ou d'un acide carboxylique libre avec de bons rendements. L'étude du couplage de ces composés avec un dérivé d'alanine ou d'acide aspartique montre qu'il est possible d'obtenir dans certains cas, des dérivés d'acide aminé porteur du groupement phosphonium boronate. Ce résultat ouvre la voie d'un développement de sels de phosphonium boronates fonctionnalisés comme groupement prosthétique pour le radiomarquage par les ions $[^{18}\text{F}]$ -fluorures d'aminoacides et de peptides ou d'autres familles de biomolécule.

Dans le but d'utiliser les sels de phosphonium fonctionnalisés pour le ciblage des dysfonctionnements mitochondriaux par imagerie TEP, une synthèse efficace en deux étapes de phosphoniums boronates porteurs d'un groupement cationique a été mise au point par quaternisations successives, à partir du diiodopropane. Ainsi, les dérivés ammoniums et phosphoniums ont été obtenus avec de bons rendements (67-89%).

La fonctionnalité boronate de ces nouveaux sels de phosphonium ouvre des perspectives extrêmement prometteuses pour le marquage par le radioélément $[^{18}\text{F}]$. Ainsi, dans un premier temps, les sels de phosphonium boronates ont été utilisés pour la préparation des sels de trifluoroborates correspondants, par réaction avec des ions fluorures. C'est ce travail qui sera décrit dans le chapitre suivant. Il sera complété par les études de stabilité en milieu aqueux des trifluoroborates obtenus.

Chapitre 3

Sels de phosphonium o-
trifluoroborates: préparation et étude
de stabilité

Depuis quelques années, les organoboranes ont été proposés pour le radiomarquage de molécules par des isotopes à courte durée de vie comme le carbone ^{11}C , l'azote ^{13}N , l'oxygène ^{15}O ou les halogènes (^{18}F , ^{123}I ,...) et pour leurs applications en imagerie médicale (Schéma 80).¹³⁴

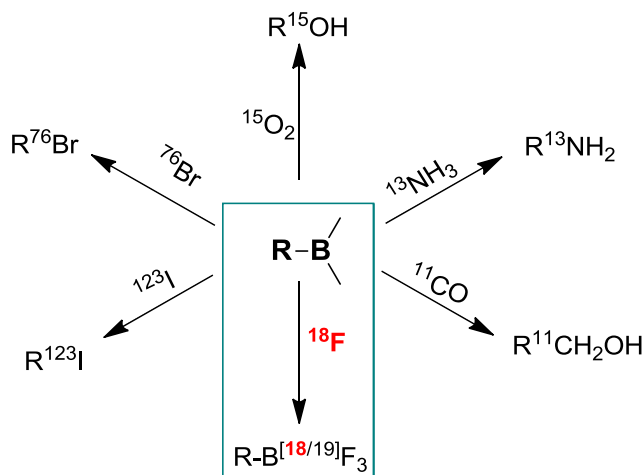


Schéma 80: Application des organoboranes pour le radiomarquage par TEP ou SPECT

Parmi les organoboranes utilisés pour le radiomarquage, les trifluoroborates ont suscité un très grand intérêt ces dernières années, puisqu'ils peuvent être facilement marqués par le fluor-18 au dernier stade de la synthèse avec de hautes activités spécifiques.^{135,136} Toutefois, une question essentielle porte sur la stabilité des trifluoroborates car ceux-ci ont l'inconvénient de s'hydrolyser plus ou moins facilement en acide boronique en milieu aqueux, ce qui peut limiter leur usage *in vivo* (Schéma 81).

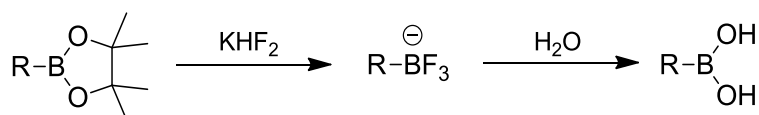


Schéma 81: Préparation et hydrolyse des trifluoroborates en présence d'eau

La stabilité de ces composés vis-à-vis de l'hydrolyse dépend fortement de la structure du squelette carboné qui supporte ce groupement. Il a ainsi été montré que des noyaux aromatiques tels que difluorophényle¹³⁵ ou thiophényle⁹⁷ ou encore la présence en position *ortho* du phosphonium⁹⁶ favorise la stabilité.

Compte tenu de l'importance de la stabilité des radiotraceurs *in vivo*, la cinétique d'hydrolyse des trifluoroborates est systématiquement étudiée. Pour des raisons de coût et de contraintes de manipulation avec le fluor-18, cette étude est réalisée dans un premier temps par spectrométrie RMN ^{19}F des [^{19}F]-aryltrifluoroborates.

¹³⁴ Kabalka, G. W. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2007**, 50, 888.

¹³⁵ Ting, R.; Harwig, C. W.; Lo, J.; Li, Y.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 4662.

¹³⁶ Burke, B. P.; Clemente, G. S.; Archibald, S. J. *Contrast Media Mol. Imaging* **2014**, DOI: 10.1002/cmmi.1615.

Ce chapitre est donc consacré à la préparation des trifluoroborates à partir des sels de phosphonium boronates fonctionnalisés précédemment, ainsi qu'à l'étude de leurs stabilités en milieux aqueux dans la perspective d'un marquage par le fluor-18 (Schéma 82).

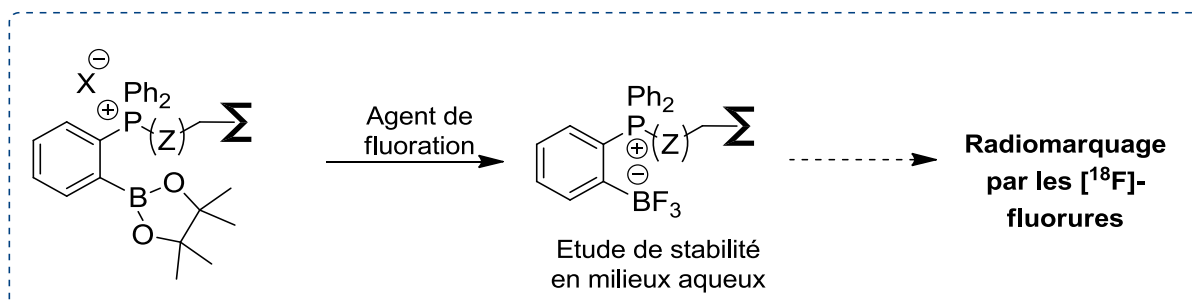
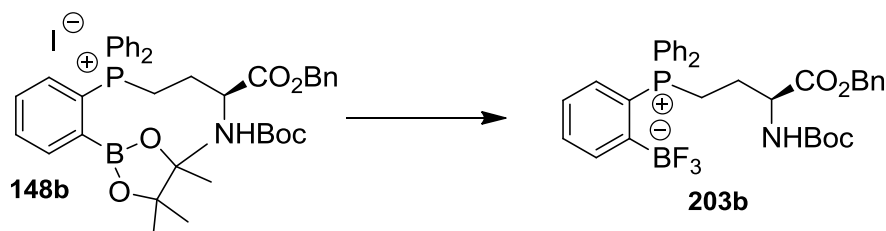


Schéma 82: Objectif du chapitre 3

I. Préparation des dérivés trifluoroborates à partir des sels de phosphonium boronates

I-1. Préparation des trifluoroborates dérivés d'acides aminés

Les aryl- et alkyltrifluoroborates peuvent être facilement préparés à partir des dérivés boronates correspondants et le KHF_2 disponible commercialement, selon la procédure décrite par Vedejs.¹³⁷ Ainsi, la préparation du phosphonium trifluoroborate aminoester de benzyle **203b** a été effectuée par réaction du précurseur boronate **148b** avec quatre équivalents de KHF_2 en solution dans un mélange méthanol/ eau (Schéma 83). Lorsque la réaction est réalisée à température ambiante durant 4 heures, l'analyse RMN ^{19}F a révélé un mélange d'espèces fluorées, dont le trifluoroborate **203b** attendu. Finalement, après 1 heure d'agitation à 50°C , le trifluoroborate **203b** est isolé sous forme d'un solide blanc avec 90% de rendement (Schéma 83, Tableau 6, entrée 4).¹¹⁰

Condition A : KHF_2 (4 eq.), MeOH/ H_2O , Ta, 4h

Mélange de composés fluorés

Condition B : KHF_2 (4 eq.), MeOH/ H_2O , 50°C , 1h

90%

Schéma 83: Préparation du phosphonium trifluoroborate aminoester de benzyle **203b**

¹³⁷ Vedejs, E.; Chapman, R. W.; Fields, S. C.; Lin, S.; Schrimpf, M. R. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 3020.

La présence de l'espèce phosphonium est confirmée par une résonnance à +29,3 ppm en RMN ^{31}P , et l'entité trifluoroborate par des résonnances à -131,9 et +2,7 ppm respectivement en RMN ^{19}F et ^{11}B (**Tableau 6, entrée 4**).

Étant donnée la présence du phosphonium à proximité du trifluoroborate et la possibilité d'une interaction $\text{P}\cdots\text{F}$,⁹⁵ une étude préliminaire de RMN ^{19}F à basse température a été réalisée pour vérifier l'équivalence ou non des trois atomes de fluor (**Figure 32**). A 300K, un signal plutôt large à -134,9 ppm est observé, indiquant aucune différenciation entre les trois atomes de fluor. Lorsque la température est abaissée à 273K, le signal s'affine avec un déplacement à -134,4 ppm. A 193K, la RMN ^{19}F montre deux signaux qui se superposent partiellement, dans un rapport approximatif de 1/2. Un atome de fluor semble donner un signal différent des deux autres et cela peut s'expliquer très vraisemblablement par une interaction avec le centre phosphonium, et une barrière de rotation pour le BF_3 qui n'est observée qu'à basse température. Ce type d'interaction pourrait être confirmé en RMN ^{31}P par la présence d'un doublet dû au couplage P-F, mais dans notre cas l'analyse ^{31}P montre seulement un singulet à 193 K, ce qui laisse penser que si cette interaction existe, elle doit être purement électrostatique sans recouvrement d'orbitale.

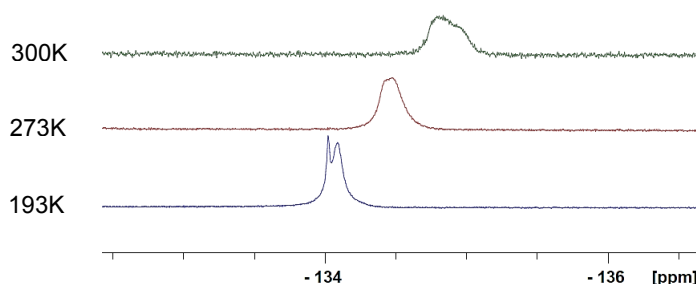
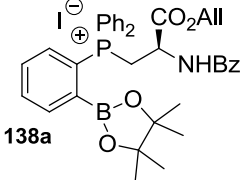
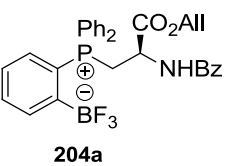
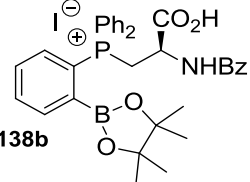
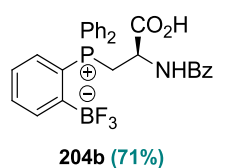
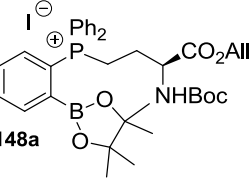
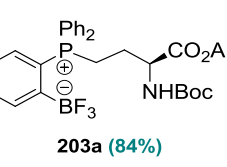
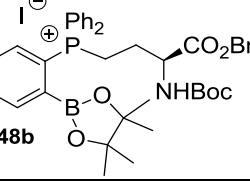
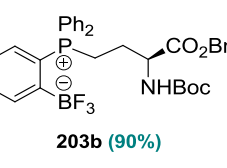
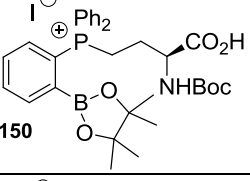
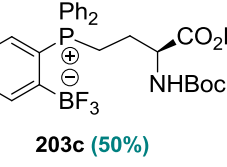
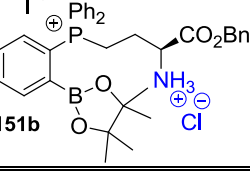
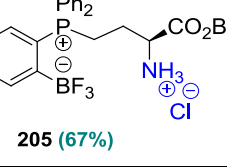
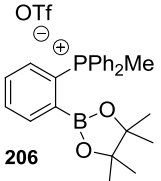
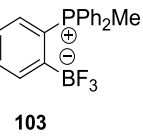
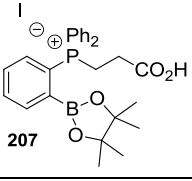
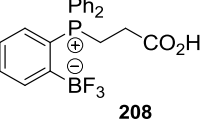


Figure 32: Étude en fonction de la température du phosphonium trifluoroborate 203b par analyse RMN ^{19}F

Les conditions de réaction mises au point pour le dérivé **203b** ont été utilisées pour la préparation des sels de phosphonium trifluoroborates d'aminoesters **203a** et **205** avec des rendements de 67 à 84%, à partir des précurseurs boronates correspondants (**Tableau 6, entrées 3, 6**). Dans le cas des sels de phosphonium boronates porteurs d'une fonction acide carboxylique libre, la fluoration est réalisée à température ambiante en 1 heure (rdts= 50-71%, **Tableau 6, entrées 2, 5**). Lorsque la réaction de fluoration a été réalisée avec le phosphonium boronate aminoester d'allyle **138a** à température ambiante ou à 50°C, les analyses RMN phosphore et fluor ont mis en évidence la présence d'un mélange de produits qui n'a pas pu être complètement identifié (**Tableau 6, entrée 1**).¹¹⁰

Tableau 6: Comparaison des caractéristiques RMN des sels trifluoroborates dérivés d'acides aminés préparés avec celles d'autres trifluoroborates décrits dans la littérature

Entrée	Sels de phosphonium boronates	Phosphoniums trifluoroborates	Caractérisation RMN (CD ₃ CN, d, ppm)		
			³¹ P	¹¹ B	¹⁹ F
1			-	-	-
2			+25,8	+2,7	-132,0
3			+29,3 ^a	+2,5 ^a	-132,0 ^a
4			+29,3 ^a	+2,7 ^a	-132,0 ^a
5			+28,7	+2,5	-132,0
6			+28,4	+2,6	-133,7
Bibliographie					
7			+26,2 ^b	+3,7 ^b	-139,0 ^b
8			+30,6	+2,83	-133,6

^a DMSO-d₆, ^b CDCl₃

Les caractéristiques spectrales de tous les sels de phosphonium trifluoroborates sont reportées dans le **Tableau 6** précédent, ainsi que celles de deux composés de référence **103** et **208** pour comparaison.^{95, 96} Ainsi, les déplacements chimiques des trifluoroborates synthétisés sont compris entre +25,8 et +29,3; +2,5 et +2,7 et -132,0 et -133,7 respectivement par RMN ^{31}P , ^{11}B et ^{19}F , ce qui est en accord avec les caractéristiques des composés de la littérature (**Tableau 6, entrées 7-8**).

L'excès énantiomérique des phosphoniums trifluoroborates **204b** et **203c** a été contrôlé par RMN ^{31}P en présence de la (1*R*,2*S*)-2-(diméthylamino)-1-phenylpropan-1-ol **139**, et donne respectivement 90 et 98% (**Tableau 6, entrées 2, 5**).

I-2. Préparation des sels de phosphonium trifluoroborates fonctionnalisés

De manière similaire aux dérivés d'acides aminés, la préparation des trifluoroborates fonctionnalisés par divers groupements (amine, amide, acide, ammonium ou phosphonium) a été réalisée à partir des sels de phosphonium boronates correspondants. Dans ce cas, la réaction est effectuée en seulement 30 minutes à 50°C, en milieu partiellement aqueux avec du KHF_2 . Le **Tableau 7** ci-après met en évidence les résultats obtenus pour chaque famille de trifluoroborates, ainsi que leurs caractéristiques spectroscopiques RMN.

Tableau 7: Préparation des phosphoniums trifluoroborates fonctionnalisés et leurs principales caractéristiques RMN

Entrée	Sels de phosphonium boronates	Phosphoniums trifluoroborates	Caractérisation RMN (CD ₃ CN, δ, ppm)		
			³¹ P	¹¹ B	¹⁹ F
1			-	-	-
2			-	-	-
3			+28,9	+2,5	-134,2
4			+28,4	+2,6	-134,1
5			+28,9	+2,6	-134,2
6			+28,4	+2,7	-134,2
7			+28,8	+2,6	-134,9
8			-	-	-

Lorsque les sels de phosphonium boronate-benzyliques **164** et **165** réagissent avec KHF_2 , les trifluoroborates se forment accompagnés malheureusement par plusieurs sous produits qui présentent des déplacements chimiques en RMN ^{31}P et ^{19}F voisins, et qui se révèlent inséparables (**Tableau 7, entrées 1-2**). En revanche, les trifluoroborates issus des sels de phosphonium **172**, **173** et **174** ont été isolés avec des rendements de 50 à 67% (**Tableau 7, entrées 3-5**). Il est intéressant de noter que les conditions de fluoration utilisées sont compatibles avec le lien peptidique présent dans le cas du composé **174**.

En partant des phosphoniums boronates **195** et **197**, les trifluoroborates correspondants sont obtenus avec de très bons rendements (rds= 83-91%, **Tableau 7, entrées 6-7**). Par contre, pour le sel de diphosphonium boronate **201**, la fluoration donne deux trifluoroborates sans que les analyses par spectrométrie RMN et de masse ne puissent confirmer la structure du produit visé **216** (**Tableau 7, entrée 8**).

II. Préparation d'un dérivé mono fluoro phosphonium borane

En dépit de la plus grande difficulté à préparer les sels de phosphonium boranes que boronates (*i.e.* **Chapitre 2, Modification des substituants au niveau de l'atome de bore**, p 79), la fluoration du bromure de phosphonium a été étudiée. Le choix de l'agent de fluoration s'est porté sur le TBAT, par analogie à la méthode employée par Gabbai *et al.*⁹⁴ Ainsi, la réaction du phosphonium borane **178** avec le TBAT à température ambiante durant 1 nuit donne le phosphonium o-fluorodimésitylborane avec un rendement plutôt faible (**Schéma 84**).

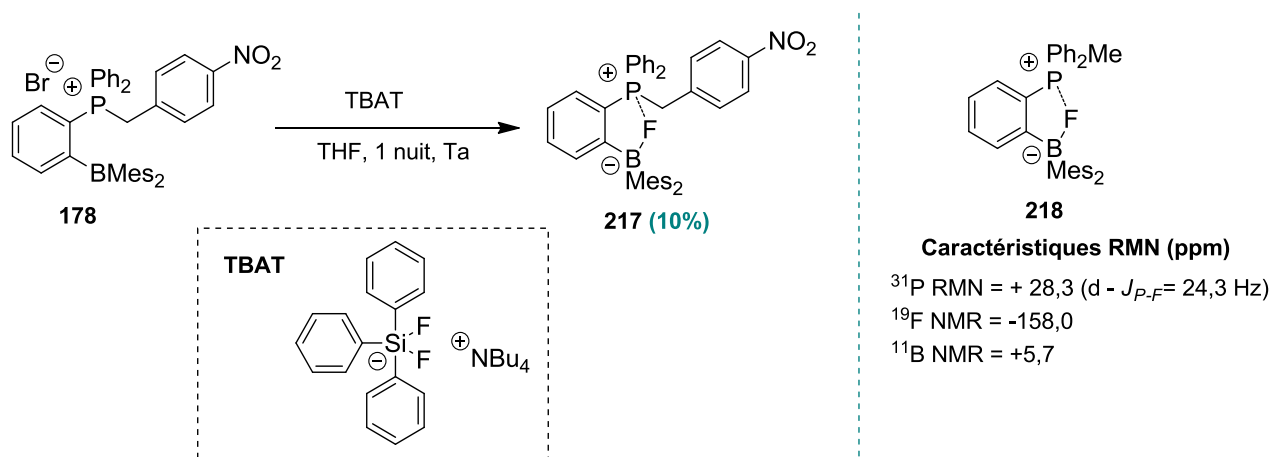


Schéma 84: Préparation du fluoro phosphonium borane 217

Les analyses par RMN ^{11}B et ^{19}F du composé **217** sont caractéristiques du groupement fluorodimésitylborane avec des résonnances à +6,8 et -150,8 ppm respectivement, et en accord avec ceux décrits dans la littérature pour le composé **218** (**Schéma 84**).⁹³ De façon très intéressante, le phosphonium borane **217** montre un doublet à +31,5 ppm en RMN ^{31}P avec un couplage $^1J_{\text{P-F}}$ de 18,1 Hz (**Figure 33**).

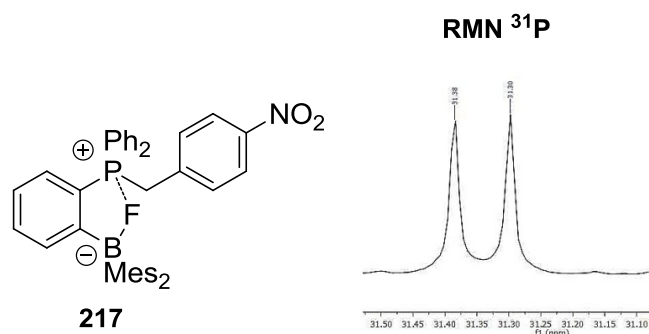


Figure 33: Spectre RMN ^{31}P du phosphonium borane 217

Ce couplage atteste dans ce cas, d'une interaction phosphore-fluor qu'on n'observe pas pour les sels de phosphonium trifluoroborates tels que **203b** (Schéma 83, Figure 32). La présence des deux groupements mésityles doit très vraisemblablement amener à l'augmentation de l'encombrement stérique du groupement BMes_2F , et ce qui doit limiter la rotation autour de la liaison C-B.

Des monocristaux du phosphonium fluorodimésitylborane **217** ont été obtenus par recristallisation lente dans l'acétonitrile. La structure déterminée par diffraction de rayons X est présentée en Figure 34. Elle montre sans ambiguïté la complexation de l'ion fluorure entre les groupes phosphonium et dimésitylborane. De façon très intéressante, on peut voir que le fluor est lié au bore et pointe en direction du phosphonium avec une distance P-F plus courte que la somme des rayons de Van der Waals des deux éléments (2,69 vs 3,45 Å).

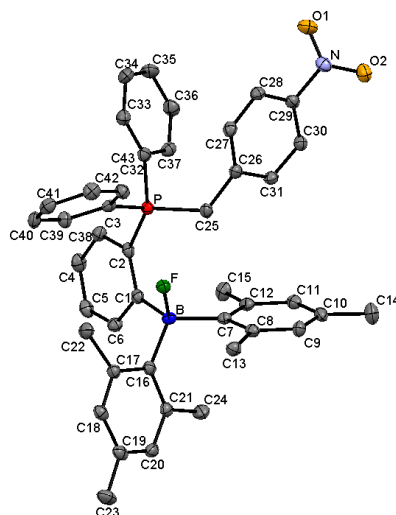


Figure 34: Structure par rayons X du phosphonium fluorodimésitylborane 217 (H omis).
Longueur de liaisons: C(1)-B 1,632(4), C(2)-P 1,810(2), C(7)-B 1,668(4), C(16)-B 1,653(4), C(25)-P 1,846(2), C(32)-P 1,810(3), C(38)-P 1,806(2), F-B 1,483(3)

III. Étude d'hydrolyse des trifluoroborates

Parmi les nombreux critères requis pour l'utilisation de radiomarqueurs en imagerie, celui de leur stabilité *in vivo* est nécessaire. Dans le cas des trifluoroborates, il est en effet bien connu qu'en milieu aqueux, ces espèces s'hydrolysent, ce qui entraîne la libération de fluor et au final, la formation de l'acide boronique correspondant. En 2008, l'équipe de Perrin *et al.* a ainsi proposé un mécanisme d'hydrolyse des aryltrifluoroborates qui se produirait avec formation d'intermédiaires tels que difluoroborane **220**, difluorohydroxyborate **221**, monofluoroborane **222** et enfin monofluorodihydroxyborate **223** (Schéma 85).¹³⁵

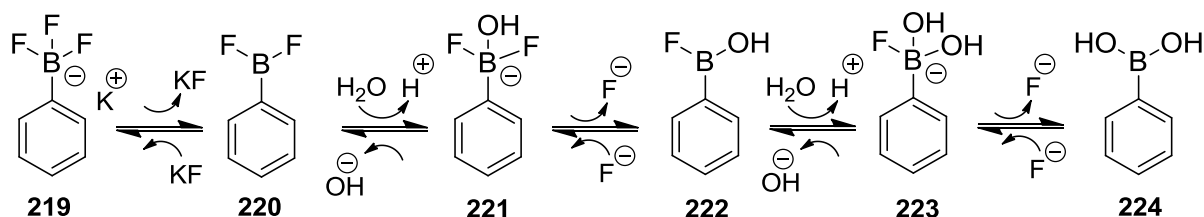


Schéma 85: Mécanisme d'hydrolyse des aryltrifluoroborates

Selon ce mécanisme, le trifluoroborate subirait une première défluoruration pour donner l'intermédiaire **220**, qui serait ensuite transformé en borate **221** en présence d'eau. Après deux défluorations successives, l'acide boronique **224** est alors formé.

La stabilité des trifluoroborates étant essentielle pour pouvoir les utiliser comme agents d'imagerie TEP, plusieurs équipes ont étudié l'influence des substituants portés par les trifluoroborates aromatiques sur leur stabilité en milieu aqueux. Perrin *et al.* ont ainsi montré l'importance d'avoir des substituants électroattracteurs en position *ortho* et *para*, ce qui ralentit considérablement l'hydrolyse des trifluoroborates tels que **225-228** dans le temps par comparaison au phényltrifluoroborate **219** (Figure 35).¹³⁵

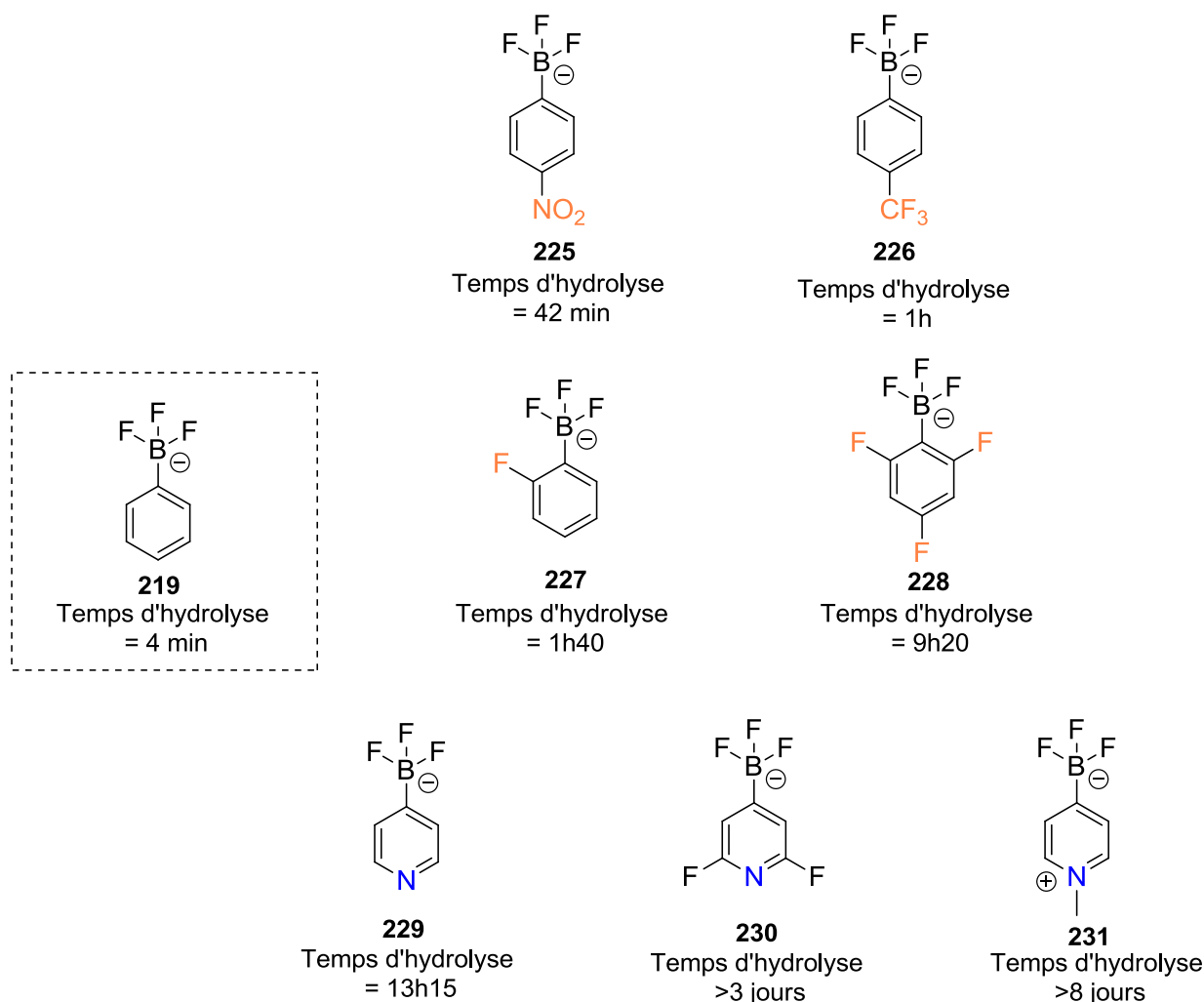


Figure 35: Temps d'hydrolyse complets de différents aryl- et hétéro- aryltrifluoroborates

Cette étude a également montré que les trifluoroborates hétéroaromatiques tels que **229-231** présentent une très bonne résistance à l'égard de l'hydrolyse. De plus, l'introduction de groupements électroattracteurs sur le cycle hétéroaromatique augmente de façon remarquable leur stabilité en milieu aqueux (**Figure 35**).¹³⁸

Un autre exemple de stabilité des trifluoroborates hétéroaromatiques est donné par le dérivé thiophénique d'aminoester **114**, synthétisé au laboratoire, qui s'est révélé stable vis-à-vis de l'hydrolyse durant plusieurs semaines (**Figure 36**).⁹⁷

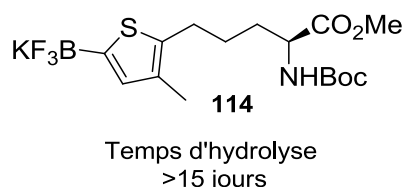


Figure 36: Résistance à l'hydrolyse du trifluoroborate aminoester dérivé du méthyl thiophène 114

¹³⁸ Li, Y.; Asadi, A.; Perrin, D. M. *J. Fluor. Chem.* **2009**, *130*, 377.

D'un autre côté, Gabbaï *et al.* ont étudié l'influence de substituants positivement chargés sur des trifluoroborates aromatiques. En particulier, la juxtaposition du groupement onium avec l'entité BF_3 entraîne une augmentation de la stabilité de tels dérivés à l'égard de l'hydrolyse.

Des exemples de trifluoroborates aromatiques zwitterioniques tels que **102-104** sont présentés en **Figure 37**, ainsi que leur temps d'hydrolyse total qui peuvent dépasser un mois.⁹⁴

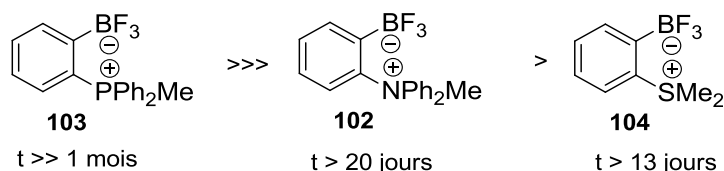


Figure 37: Hydrolyse de différents zwitterions trifluoroborates

Par comparaison aux résultats obtenus par Perrin *et al.*, la présence d'un onium semble être la méthode la plus efficace de stabilisation des espèces trifluoroborates envers l'hydrolyse. En effet, la stabilisation du trifluoroborate **103** est univoque avec un temps d'hydrolyse largement supérieur à 1 mois.

Plusieurs facteurs seraient à l'origine de la stabilisation des phosphoniums trifluoroborates. D'une part, du fait de la rigidité du pont phénylène, les groupements phosphoniums et trifluoroborates sont dans le même plan à proximité, ce qui favorise ainsi les interactions coulombiennes. En plus de ces interactions, des liaisons hydrogènes intramoléculaires impliquant les atomes de fluor et des hydrogènes du groupement méthyl viennent stabiliser ces zwitterions. D'autre part, un autre facteur possible pour la stabilité de **103** et **104** viendrait des interactions orbitales plus ou moins fortes entre la paire libre du fluor et l'orbitale vide du centre onium.⁹⁵ En effet, les structures par rayons X de ces composés ont mis en évidence que la distance P-F ou S-F est plus courte que la somme des rayons de Van der Waals des deux éléments. Toutefois, dans le cas du composé **103**, cette interaction n'a également pas pu être confirmée en RMN ^{31}P avec seulement, la présence d'un singulet,⁹⁵ ce qui est en accord avec les observations faites pour le sel de phosphonium trifluoroborate **203b**.

Dans le cas des phosphoniums trifluoroborates, cette équipe a montré que la stabilité dépend également de la nature des substituants portés par l'atome de phosphore comme cela est illustrée avec la cinétique d'hydrolyse des composés **103**, **208** et **232** reportée sur la **Figure 38**.⁹⁶ Ce graphique donne ainsi le pourcentage de trifluoroborates, quantifié par RMN ^{19}F , en fonction du temps, lorsqu'ils sont placés en milieu aqueux. On remarque, par exemple, qu'à 14 jours (soit environ 20110 min), 95% de **103** sont encore présents dans le milieu tandis que pour **232**, seulement 43% sont observés (**Figure 38**).

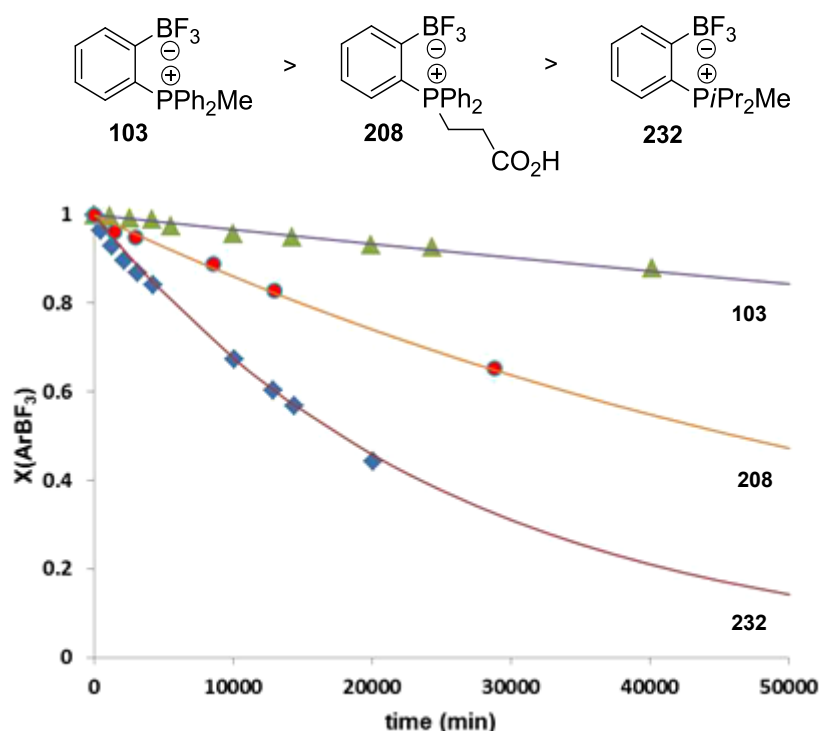


Figure 38: Influence de la nature des substituants du groupement phosphonium sur la cinétique d'hydrolyse des trifluoroborates en milieu aqueux ($X(\text{ArBF}_3) = [\text{ArBF}_3]/[\text{F}^-] + [\text{ArBF}_3]$)

III-1. Étude d'hydrolyse des sels de phosphonium trifluoroborates dérivés d'acides aminés

Dans le but d'utiliser ces nouveaux phosphoniums trifluoroborates dérivés d'acides aminés préparés dans ce travail pour l'imagerie TEP, leur stabilité à l'hydrolyse a été étudiée. En effet, une défluorination trop importante peut en effet nettement diminuer la qualité d'une image, à cause de la fixation du fluor libre au niveau des os. L'activité du fluor-18 étant considérée comme négligeable après 24h, les études d'hydrolyse ont été réalisées sur des périodes maximum de 3 jours avec un suivi régulier durant les premières heures.

L'étude d'hydrolyse a été effectuée à des concentrations de l'ordre de 10 mM pour permettre un suivi par spectrométrie RMN ^{19}F , en milieu CD_3CN /tampon phosphate pH 7.1 (2:8) et à température ambiante.

Ainsi, la réaction d'hydrolyse du trifluoroborate de sérine **204b** a été étudiée par RMN ^{19}F , et donne les spectres suivants en fonction du temps (Figure 39).

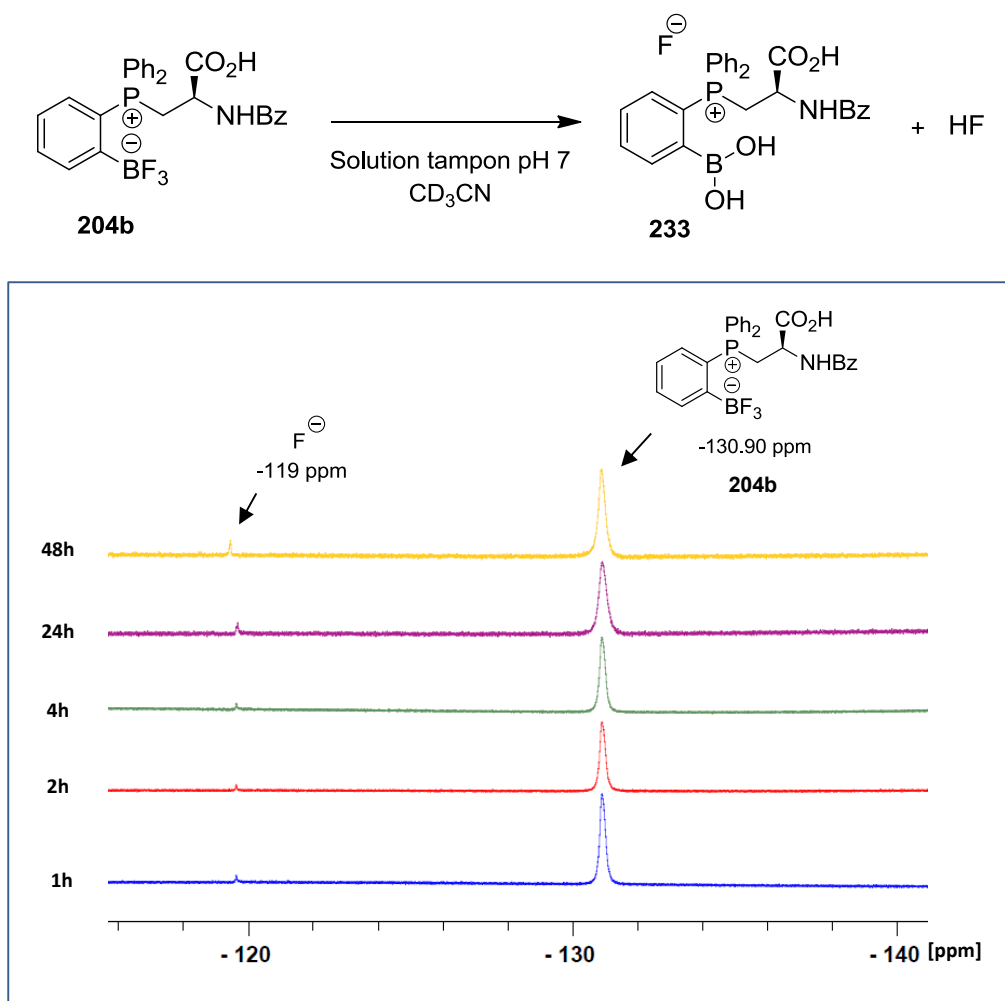


Figure 39: Étude par RMN ¹⁹F de l'hydrolyse du phosphonium trifluoroborate **204b** en fonction du temps

Alors que le phosphonium trifluoroborate dérivé de sérine **204b** ne se décompose pas dans les solvants organiques, une défluoration minimale est observée dans les conditions d'hydrolyse : le signal en RMN ¹⁹F à -130,90 ppm du composé **204b** diminue très légèrement parallèlement à l'augmentation du signal à -119 ppm correspondant au F⁻ (fluor libre). Après 24h, moins de 3% de fluorures libres sont détectés par RMN ¹⁹F, ce qui montre que ce dérivé phosphonium exhibe une bonne stabilité en milieu aqueux.

De manière similaire, l'hydrolyse des trifluoroborates **203b** et **203c** préparés dans ce travail a été étudiée par spectrométrie RMN ¹⁹F. L'évolution des spectres dans le temps est présentée ci-après (Figure 40).

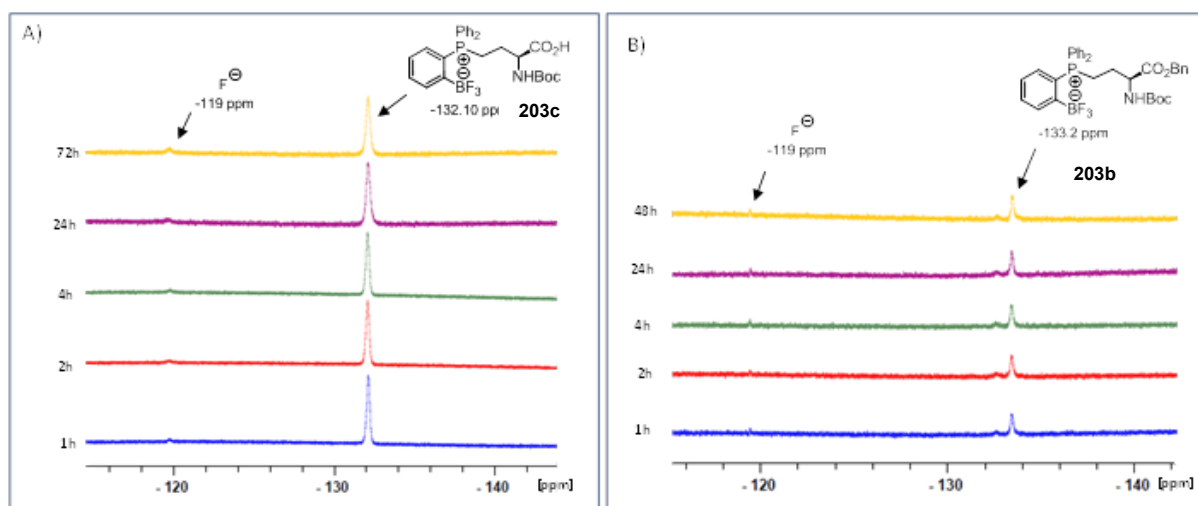


Figure 40: Étude par RMN ^{19}F de l'hydrolyse des dérivés **203b** et **203c** en fonction du temps

Dans le cas de l'étude du composé **203c**, l'analyse RMN ^{19}F (**Figure 40A**) montre là encore, l'apparition d'une faible quantité de fluor libre dans le milieu (moins de 3% après 4h, et 11% après 3 jours), ce qui atteste de la bonne stabilité du trifluoroborate d'acide aminé **203c** à l'égard de l'hydrolyse. Par contre, la défluoruration du trifluoroborate aminoester de benzyle **203b** est un peu plus importante que pour les deux dérivés acides, mais il convient de noter que ceci est relatif puisqu'après 4h, seulement 5% de fluor libre se forment dans le milieu (**Figure 40B**). Le phosphonium **205** se comporte de manière similaire avec moins de 5% de fluorure libre après 4 heures. De plus, comme les cinétiques d'hydrolyse des aminoesters d'allyle et de benzyle **203a** et **203b** sont très semblables, cela prouve que dans notre cas le changement de groupement protecteur n'influence pas de façon significative la défluoruration.

L'hydrolyse des phosphoniums trifluoroborates aromatiques **203b-c** et **204b** a été comparée au composé **103** décrit par Gabbai *et al.*, ainsi qu'au phényltrifluoroborate **219** (**Figure 41**). Il est important de préciser que le pourcentage relatif de défluoruration des aryltrifluoroborates (*i.e.* $[\text{ArBF}_3]/([\text{F}^-] + [\text{ArBF}_3])$) est obtenu par intégration du signal du trifluoroborate fixé à 100, par rapport à l'augmentation du signal correspondant aux fluorures libres en fonction du temps. Les détails des résultats sont reportés dans la partie expérimentale.

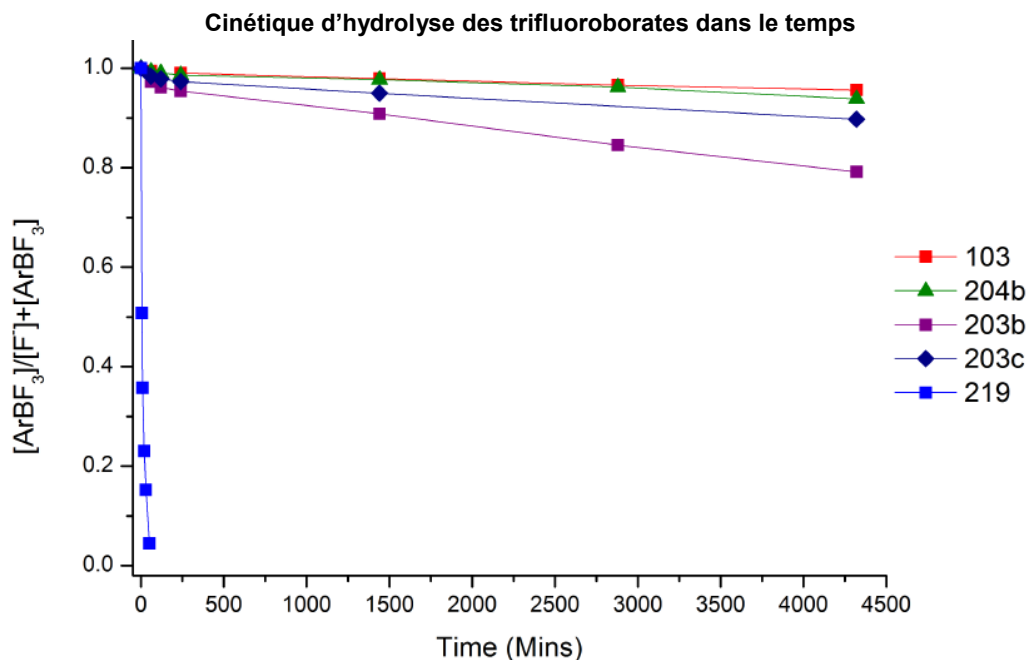
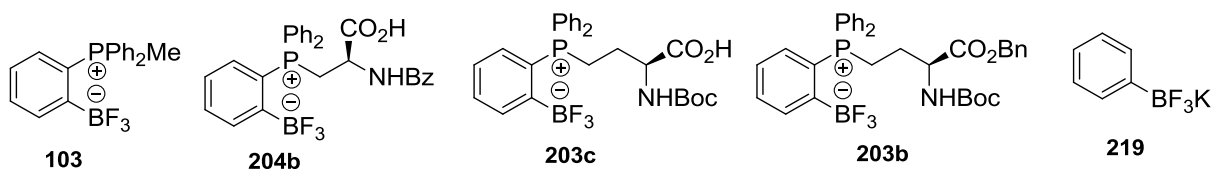


Figure 41: Cinétique d'hydrolyse des espèces trifluoroborates en fonction du temps

Tout d'abord, on s'aperçoit que les cinétiques d'hydrolyse des phosphonium trifluoroborates dérivés d'acides aminés sont très similaires à celle du composé de référence **103** dans les mêmes conditions, en particulier pour les phosphoniums trifluoroborates acides aminés **203c** et **204b**.

On constate également que l'hydrolyse des composés est vraiment minimisée sur une période de 5h, ce qui est favorable pour une éventuelle application en imagerie TEP.

Enfin, il semble bien que la présence d'une fonction acide carboxylique libre sur l'acide aminé du trifluoroborate **203c** ralentisse l'hydrolyse par rapport à son analogue ester **203b** sans qu'une explication claire puisse être donnée puisque le milieu est tamponné.

En résumé, les études de biodistribution du composé [^{18}F]-**103** décrit par Gabbai *et al.* ont mis en avant l'absence de signal sur le squelette de l'animal, indiquant aucune libération d'ion [^{18}F]-fluorures durant les expériences d'imagerie réalisées.⁸⁷ Ces résultats étant très proches de ceux obtenus pour le composé **103**, les dérivés phosphonium trifluoroborate d'acides aminés apparaissent donc comme de très bons candidats pour le marquage au fluor-18. La forte stabilité démontrée par ces trifluoroborates zwitterioniques est due principalement à la proximité des groupements BF_3 et phosphonium, ayant une stabilisation coulombienne et certainement un effet stérique qui empêchent l'hydrolyse.

III-2. Étude d'hydrolyse des phosphoniums trifluoroborates porteurs d'un groupement cationique

Afin d'étudier l'intérêt des phosphoniums trifluoroborates porteurs d'un groupement cationique pour l'imagerie TEP des dysfonctionnements mitochondriaux, leurs cinétiques d'hydrolyse ont également été suivies par spectrométrie RMN ^{19}F .

L'hydrolyse du phosphonium trifluoroborate/ammonium **212** a tout d'abord été suivie par RMN ^{19}F , en fonction du temps et les spectres sont reportés sur la **Figure 42**.

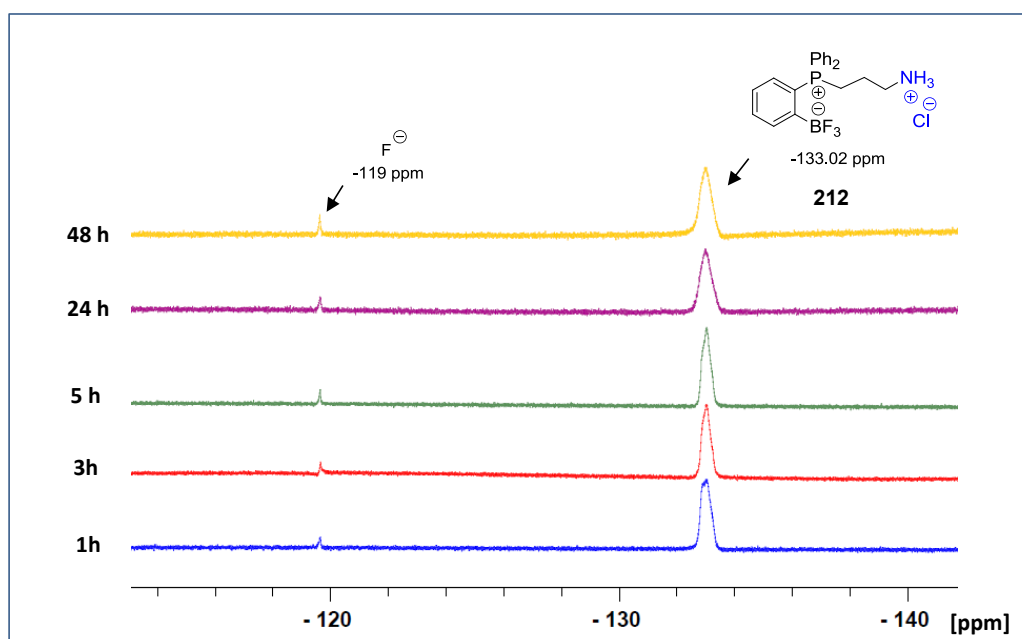


Figure 42: Étude de l'hydrolyse du phosphonium trifluoroborate **212** par RMN ^{19}F en fonction du temps

Cette étude montre une légère défluoration dans le temps car le signal en RMN ^{19}F à -133,02 ppm correspondant à **212** diminue légèrement pendant que celui du fluorure à -119 ppm augmente lentement. Après 5h, seulement 2% de fluorures libres sont détectés par RMN ^{19}F , et moins de 4% après 48h, ce qui atteste de la très bonne stabilité du phosphonium trifluoroborate **212** dans les conditions d'hydrolyse.

De façon similaire, l'hydrolyse des deux autres phosphoniums porteurs d'un groupement ammonium **214** et **215** a été étudiée par RMN ^{19}F , dont les spectres sont présentés sur la **Figure 43**.

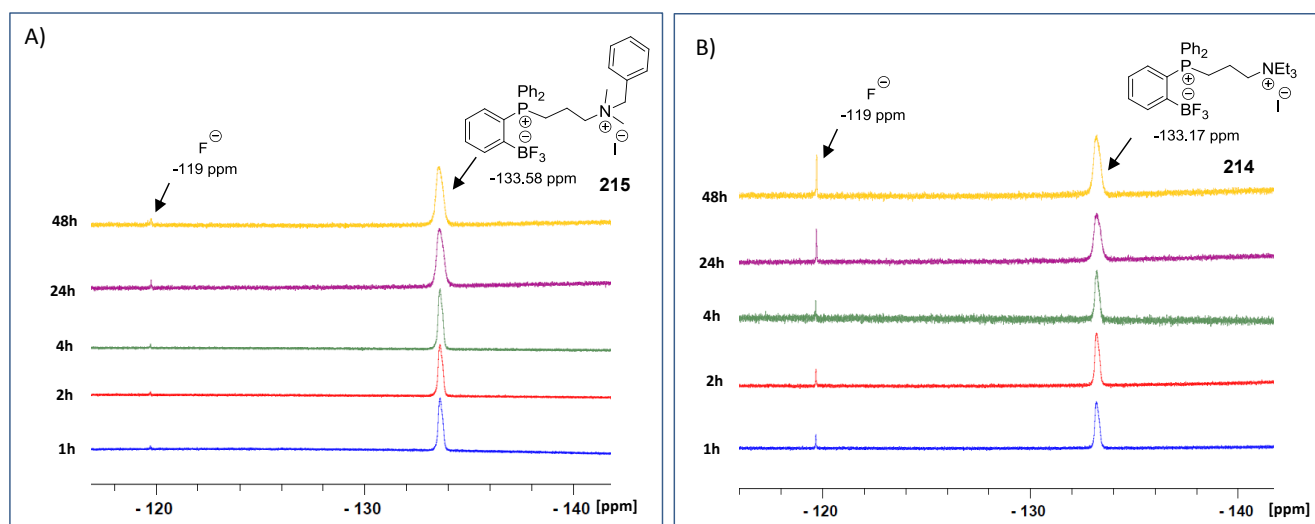


Figure 43: Étude de l'hydrolyse des phosphoniums trifluoroborates **214** et **215** par RMN ^{19}F

De manière analogue au sel d'ammonium **212** précédemment étudié, le composé **215** s'hydrolyse très lentement puisque l'analyse RMN ^{19}F montre l'apparition de très peu de fluorures libres dans le milieu (moins de 3% après 4h, et 5,5% après 24 heures, **Figure 43A**). Dans le cas du sel de triéthylammonium **214**, la perte de fluorures est un peu plus rapide puisque cela représente 5 et 12% par intégration des signaux après 4 heures ou 24 heures (**Figure 43B**). Cependant, cette hydrolyse reste relativement limitée dans le temps requis pour des applications en imagerie TEP.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, la préparation des sels de phosphonium *o*-trifluoroborates a été décrite à partir des phosphoniums boronates correspondants. Les trifluoroborates sont obtenus avec des rendements de 50 à 91%, par réaction des précurseurs boronates avec du KHF_2 dans des conditions douces impliquant une phase aqueuse. Cette réaction est rapide (1h max.), et a conduit aux sels de phosphonium boronates sous forme de zwitterions avec la charge négative du BF_3 compensée par le phosphonium situé en *ortho*. Nous avons aussi montré que la réaction de fluoration est compatible avec différents groupements fonctionnels (amine, acide carboxylique, amide....).

D'un autre côté, la préparation du fluoro phosphonium borane a été décrite par réaction du TBAT avec le précurseur correspondant à température ambiante. Contrairement aux trifluoroborates, la présence des groupements encombrants mésityles entraîne la chélation d'un seul atome de fluor, donnant ainsi un effet de pince. De façon très intéressante, l'existence d'une interaction donneur-accepteur entre les atomes de phosphore et de fluor a pu être mise en évidence dans ce cas, par RMN ^{31}P et par structure RX.

L'étude de la stabilité en milieu aqueux des phosphoniums o-trifluoroborates dérivés d'acides aminés effectuée par suivi RMN ^{19}F a permis d'établir que ces dérivés présentent une très bonne résistance envers l'hydrolyse, avec un maximum de 5% de fluorures libres dans le milieu après 5 heures. De plus, ces résultats montrent également qu'après 3 jours, ces trifluoroborates sont stables et peu sensibles à la nature des substituants (Boc, Benzyle, Benzoyl...) de la partie carbonée.

Finalement, il ressort que ces nouveaux phosphoniums o-trifluoroborates exhibent des stabilités notables, bien supérieures au temps de demi-vie du fluor-18 (110 min), ce qui est favorable pour le radiomarquage. Ces études à froid étant très encourageantes, la transposition au marquage «à chaud» a été naturellement envisagée afin d'envisager l'utilisation de tels composés comme radiotraceurs pour l'imagerie TEP. Ces études de radiomarquage, réalisées à l'Université de Hull sont maintenant détaillées dans le chapitre suivant.

Chapter 4

[¹⁸F]-Radiolabelling of boronate or
trifluoroborate phosphoniums

Positron Emission Tomography (PET) has become a popular imaging technique that is widely used for diagnostic purposes and drug development. As mentioned in the introduction, this technique requires the incorporation of a positron emitting atom in a selected bioactive molecule. To date, much attention has been devoted to [^{18}F] F^- because of its nuclear decay characteristics and the ease of preparation from [^{18}O]-water.⁶

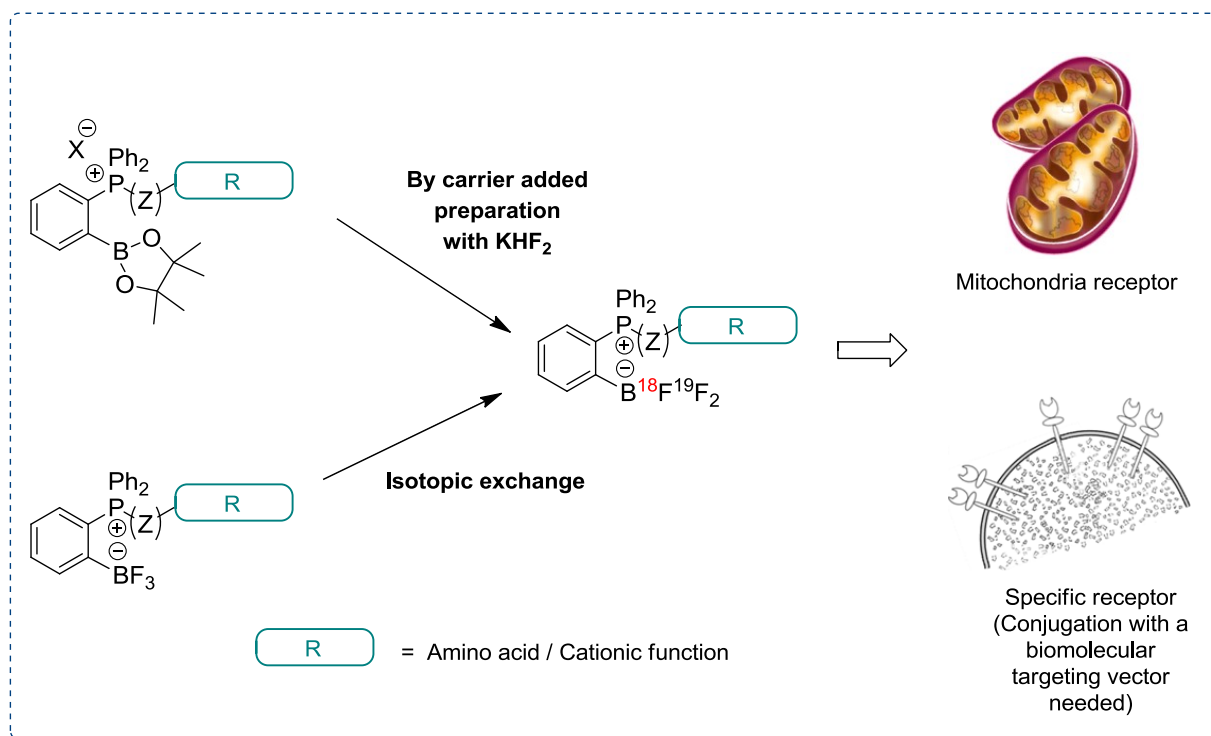
An approach that has gained interest in the past few years, involves the use of heteroatom that is appended to a biomolecule and treated with [^{18}F] F^- just prior to injection.^{66,67,70,72,136} Such an approach is attractive as the time consuming synthetic steps can be carried out before the introduction of the short-lived ^{18}F -radionuclide. **Previous research has demonstrated that [$^{18/19}\text{F}$]- BF_3 radiotracers can be synthesised with high stability and specific activity,^{75,76,77,79,139} it is therefore necessary to develop new molecular imaging agents based on this strategy.**

The previous study generated data on the synthesis and the stability in aqueous media of various «cold» trifluoroborate salts. Linking with the work of Pr. S. Archibald in the design and synthesis of targeted imaging agents (MRI, PET and optical imaging),¹⁴⁰ and with our objective to synthesise a radiopharmaceutical, we investigated the radiolabelling of our fluoride pincer derivatives through a B-F approach by isotopic exchange and carrier added preparation of [^{18}F]-fluoride ions to ascertain the optimal conditions for radiolabelling molecules in this class. This phosphonium trifluoroborate compounds were developed for applications to myocardial and oncologic imaging based upon targeting mitochondria receptor or specific receptors overexpressed in a given pathology (**Scheme 86**).

The radiolabelling procedures were carried out at the Positron Emission Tomography Research Centre in Hull, during a January-April 2014 internship under the supervision of Pr. S. Archibald and G. Clemente, and further completed by this team.

¹³⁹ Liu, Z.; Hundal-Jabal, N.; Wong, M.; Yapp, D.; Lin, K. –S.; Bénard, F.; Perrin, D. M. *Med. Chem. Commun.* **2014**, 5, 171.

¹⁴⁰ a) Silversides, J. D.; Smith, R.; Archibald, S. A. *Dalton Trans.* **2011**, 40, 6289. b) Lorch, M.; Thomasson, M. J.; Diego-Taboada, A.; Barrier, S.; Atkin, S. L.; Mackenzie, G.; Archibald, S. A. *Chem. Commun.* **2009**, 6442. c) Fischer, C. M.; Fuller, E.; Burke, B. P.; Mogilireddy, V.; Pope, S. J. A.; Sparke, A. E.; Déchamps-Olivier, I.; Cadiou, C.; Chuburu, F.; Faulkner, S.; Archibald, S. J. *Dalton Trans.* **2014**, 43, 9567.



Scheme 86: Objectif of the part 4

I. General considerations

Developing synthetic pathways for PET tracers requires the consideration of several practical aspects not encountered by the typical synthetic chemist.

All manipulations with the radioisotope were carried out within a shielded hot cell or behind bench shielding in order to limit the dose exposed to the radiochemist (**Figure 44**). In addition, the radiochemist always tries to maximize distance from, minimize time exposed to, and keep shielding in-between the experimentalist and the radioactivity.



Figure 44: Shielded cells

The [^{18}F]-isotope is produced in nano- or picomolar amounts, which presenting a challenge in the scale on which the reaction are carried out (non stoichiometric reaction with a large excess of precursor/reagent per comparison of the fluorine-18).

The half-life of the radioisotope imposes time limitation on the chemistry which can be performed. Indeed, ideally a complete radiosynthesis (including purification) should not take more than three half-lives of the radioisotope in question.

Several parameters need to be considered in radiochemistry including conversion, radiochemical yield (RCY), radiochemical purity (RCP) and specific activity (SA).

The **conversion** points out the yield of the [^{18}F]-incorporation into the molecule determined by radio-TLC or radio-HPLC. The **radiochemical yield** (RCY) denotes the total amount of activity in a purified molecule in relation with the initial activity used. These values can be corrected for the radioactive decay or not corrected for the radioactive decay.¹⁴¹ The **radiochemical purity** (RCP) of a radiopharmaceutical preparation represents that fraction of the radionuclide present in its stated chemical form and is determined by HPLC-UV.

The **specific activity** (SA) denotes the fraction of the radiotracer in relation to the total amount of compound (both labelled and unlabelled).¹⁴¹ The unlabelled species are chemically identical to the desired radiotracer, and consequently, will have the same biological behavior with both competing for the same receptors. The specific activity (SA) is expressed in GBq/ μmol or mCi/ μmol (1 mCi= 37 MBq). The values of specific activity are of great importance for the study of receptor targets that are present at a very low

¹⁴¹ Schirmacher, R.; Wängler, C.; Schirmacher, E. in *Fluorine-18 Radiochemistry: Theory and Practise in Pharmaceutical Radiochemistry (I)*, Ed. Wester, H. J.; Vol. 1; Munich Molecular Handbook series, Sunhomics Print Media and Publishing; 2010; 5-73.

concentration. Indeed, the higher this value is, the less non-radioactive substance that is present to dilute the radiolabelled compound. High SA prevents saturation of the receptor with the unlabelled species.

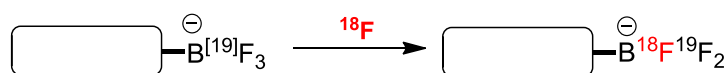
When the radiotracers are used for myocardial imaging, the SA is not paramount characteristic since the expected uptake mechanism is related to the electric potential difference of the mitochondria. However, SA would be an important factor if we used this compound for the radiolabelling of biomolecules with known affinity for specific targets that are overexpressed in a given pathology. Nevertheless, a higher SA involves also using low concentration of the radiolabelled compound injected, which avoids eventual toxicity problems.

To quantify the specific activity (SA), the area under each radiofluorinated product UV peak was fitted to a standard calibration curve previously generated using several known concentrations of the cold reference compounds injected into the same HPLC system.

$$\text{SA (GBq/}\mu\text{mol)} = \frac{\text{final radiotracer activity (GBq)}}{\text{volume (mL)} \times \text{concentration (g/mL)}} \times \text{molar mass (g/}\mu\text{mol)}$$

II. Direct Isotopic exchange radiolabelling

As previous research has demonstrated that [^{18/19}F]-trifluoroborate radiotracers can be obtained with high specific activity using no or very low [¹⁹F]-carrier added strategy,^{96,139,142,143} the isotopic exchange reaction was initially investigated using trifluoroborate phosphonium amino acid derivatives previously synthesised in this project. This chemical process involves the substitution of one cold [¹⁹F]-fluorine isotope for a [¹⁸F]-radioisotope without changing the overall composition of the molecule (**Scheme 87**).



Scheme 87: Isotopic exchange reaction

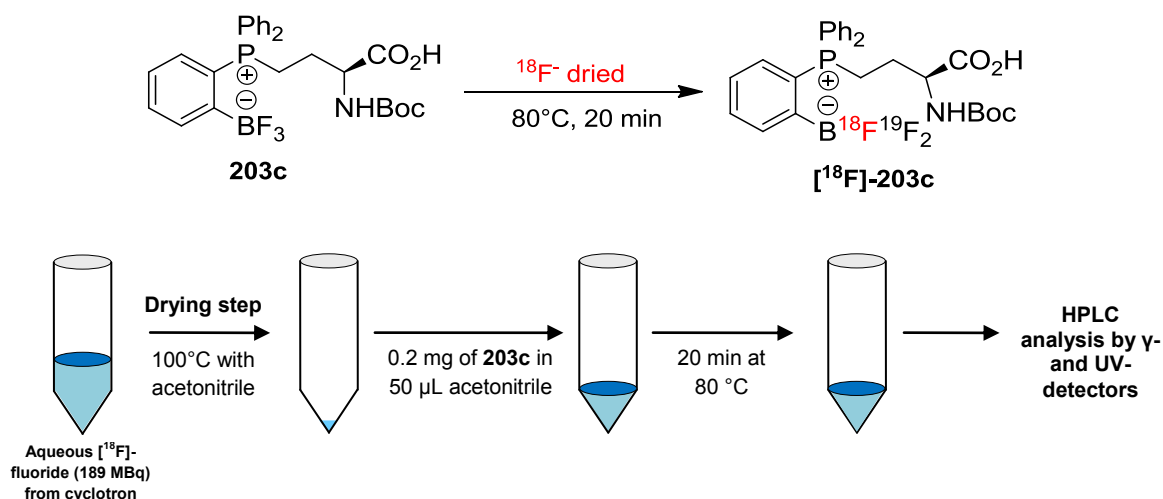
¹⁴² Liu, Z.; Li, Y.; Lozada, J.; Pan, J.; Lin, K. –S.; Schaffer, P.; Perrin, D. M. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2012**, 55, 491.

¹⁴³ Liu, Z.; Li, Y.; Lozada, J.; Schaffer, P.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 2303.

II-1. Radiosynthesis of trifluoroborate phosphonium derived from amino acids (203a-c)

Because of its greater resistance to hydrolysis, compound **203c** was selected as the initial candidate for the radiofluorination.

Inspired by the recently reported isotopic exchange procedure used for the preparation of [^{18}F]-aryltrifluoroborate (20 min, RT, pH 1.5),⁹⁶ we found that in our case a simple stirring of [^{18}F]-fluoride, **203c** (0.2 mg dissolved in 30 μL acetonitrile) and acetic acid (pH 2) at room temperature for 20 minutes afforded [^{18}F]-**203c** in a poor % conversion of 9% (based on HPLC). Since these preliminary attempts were not optimal, we progressed to develop a procedure using elevated temperature rather than room temperature under acidic conditions (**Scheme 88**).¹⁴⁴



Scheme 88: Experimental protocol of direct ^{18}F - ^{19}F isotopic exchange reaction employed for radiolabelling of **203c** at 80°C

The first step, in the radiochemical process with [^{18}F]-fluoride ions was the removal of the bulk [^{18}O]-water recovered from the cyclotron target. Thus, acetonitrile was added to accelerate the drying of [^{18}F] F^- (189 ± 23 MBq) at 100°C under compressed air flow. The [^{18}F]-fluoride was then resuspended in a solution that contained **203c** (0.2 mg) in 50 μL of acetonitrile. The ^{18}F - ^{19}F isotope exchange reaction was performed at 80°C for 20 min, and after dilution with 500 μL of acetonitrile, the crude mixture was loaded onto a reverse phase HPLC which indicated the formation of [^{18}F]-**203c** with a % conversion of 42% (**Scheme 88**, **Figure 45**). The identity of [^{18}F]-**203c** was confirmed by comparing of its elution time with that of its non-radioactive analog **203c**, and no radioactive side products other than unreacted [^{18}F] F^- were observed (**Figure 45**).

¹⁴⁴ Clemente, G. S.; Bernard, J.; Burke, B. P.; Malacea-Kabbara, R.; Jugé, S.; Archibald, S. J. *J. Fluor. Chem.* (In preparation).

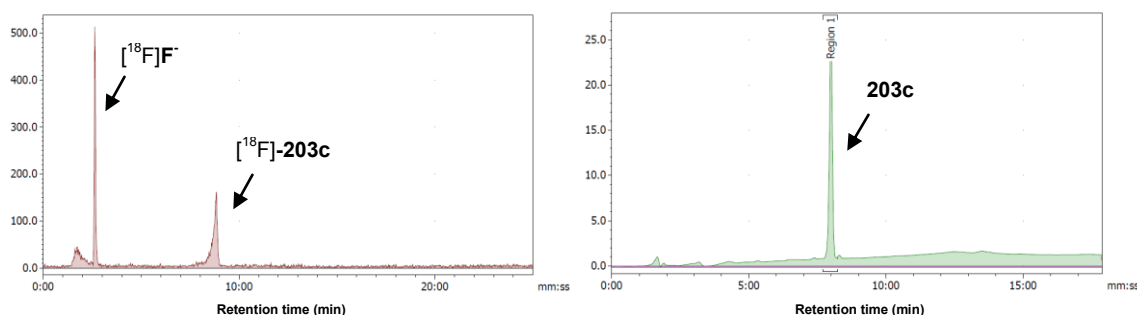


Figure 45: Left: Crude radio-HPLC profile for the ^{18}F -labelling of **203c**. Right: UV-HPLC profile of **203c** as the standard reference.

In order to boost the potential of this procedure, we considered that the precursor's concentration might prove to be beneficial on the % conversion as illustrated by the **Figure 46**. Thus, a constant quantity of **203c** (0.2 mg) is diluted in different volumes of acetonitrile.

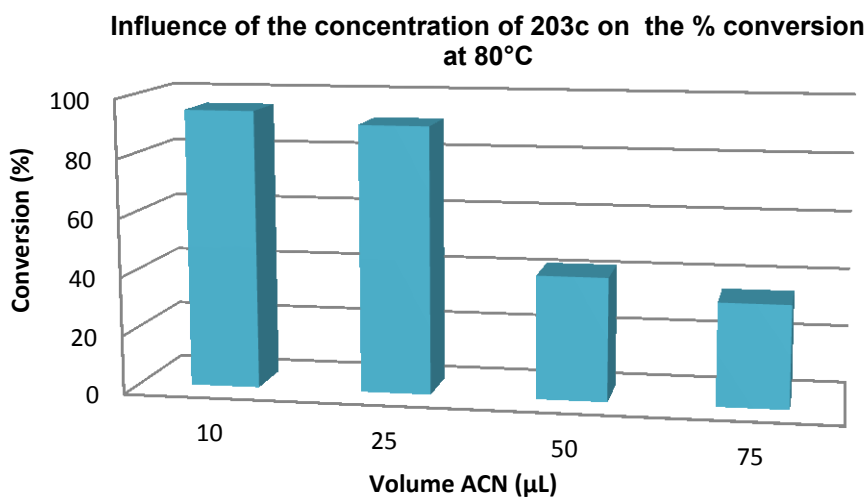


Figure 46: Radiofluorination of $[^{18}\text{F}]\text{-203c}$ in dependence on the concentration of precursor **203c**

Unsurprisingly, concentration of **203c** was shown to have a significant influence on the % conversion as 0.2 mg of **203c** in 10 μL gave a high yield of 95% but in 75 μL , the yield of $[^{18}\text{F}]\text{-203c}$ dropped to 34% (**Figure 46**).¹⁴⁴

In order to further optimise the reaction outcome, we focussed our attention on the contribution of temperature, solvent and amounts of reagent on the conversion and SA as summarised in **Table 8**.

Table 8: [^{18}F]-radiolabelling of **203c**

Entry	Amount (mg)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Solvent	Conversion (%) ^{a,c}	SA (GBq/ μmol) ^{b,c}
1	0.2	80	ACN	95\pm3	3.2\pm0.7
2	0.2	50	ACN	42	0.07 \pm 0.5
3	0.2	RT	ACN	0	-
4	0.2	80	Water	39	-
5	0.02	80	ACN	95\pm2	-
6	0.002	80	ACN	0	-

All reactions during 20 min in 10 μL of solvent, 189 \pm 23 MBq of [^{18}F]F⁻. ^adecay corrected. ^bend of synthesis. ^cthe reactions have been repeated three times with % conversion and SA representing the average of these three measurements.

As illustrated by **entries 1-3 (Table 8)**, **203c** undergoes efficient fluoride exchange but only at high temperature (80 $^{\circ}\text{C}$). Indeed, decreasing of the temperature from 80 $^{\circ}\text{C}$ to 50 $^{\circ}\text{C}$ was shown to have a negative impact on the % conversion and SA (**Table 8, entry 2**). Isotopic exchange reaction wasn't effective at room temperature (**Table 8, entry 3**). Substitution of acetonitrile with water reduced the % conversion to about one third of that obtained previously (**Table 8, entry 4**). This may be accounted for by the increase nucleophilicity of the [^{18}F]-fluoride in aprotic solvent (*i.e* ACN) in contrast to aqueous conditions where it is solvated via hydrogen bonds.²⁰ However, reducing the amounts of **203c** used in radiolabelling reaction provided a viable alternative and similar yields were obtained (**Table 8, entry 5**). Moreover, when a lower quantity of **203c** is employed as in **entry 6**, no incorporation of fluoride is observed, a trend that underscores the effect of the dilution on reaction.¹⁴⁴

Gratifyingly, general conditions, as optimised above (**Table 8, entry 1**) were used to investigate the ^{18}F - ^{19}F isotopic exchange reaction of the ester analogs **203a-b (Table 9)**.

Table 9: [^{18}F]-radiolabelling of **203a-b**

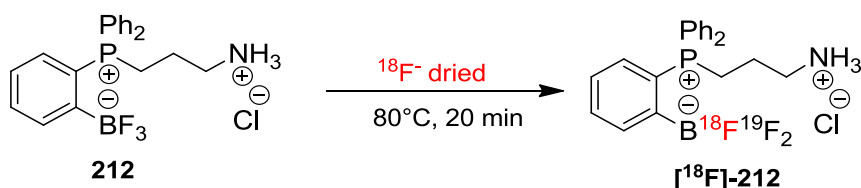
Precursor	Amount (mg)	Conversion (%) ^{a,c}	SA (GBq/ μmol) ^{b,c}
203a	0.2	90 \pm 1	0.9 \pm 0.4
203b	0.2	94 \pm 1	0.6 \pm 0.2

All reactions during 20 min under 80 $^{\circ}\text{C}$ in 10 μL of ACN, 189 \pm 23 MBq of [^{18}F]F⁻. ^adecay corrected. ^bend of synthesis. ^cthe reactions have been repeated three times with the % conversion and SA representing the average of these three measurements.

Treatment of precursor **203a** and **203b** with ^{18}F afforded the ester analogs [^{18}F]-**203a-b** in 90 and 94% yields in spite of low SA (0.6 to 0.9 GBq/mol).¹⁴¹

II-2. Direct isotopic exchange reaction extend to cationic trifluoroborate derivatives

Having confirmed that we are able to prepare several [^{18}F]-trifluoroborate phosphonium amino acid salts efficiently within 30 min, we continued to investigate the feasibility of the isotopic exchange reaction. As such, we have chosen to apply it to the cationic trifluoroborates previously synthesised (**205**, **212**, **214** and **215**). Due to its greater resistance to hydrolysis, compound **212** was selected as the initial target (**Scheme 89**).



Scheme 89: Preparation of [^{18}F]-212 by direct isotopic exchange

Unfortunately, in this case, this procedure give us some unreproducible results where the % conversion varied between 15 to 100% as illustrated by the radiochromatograms shown in **Figure 47**.

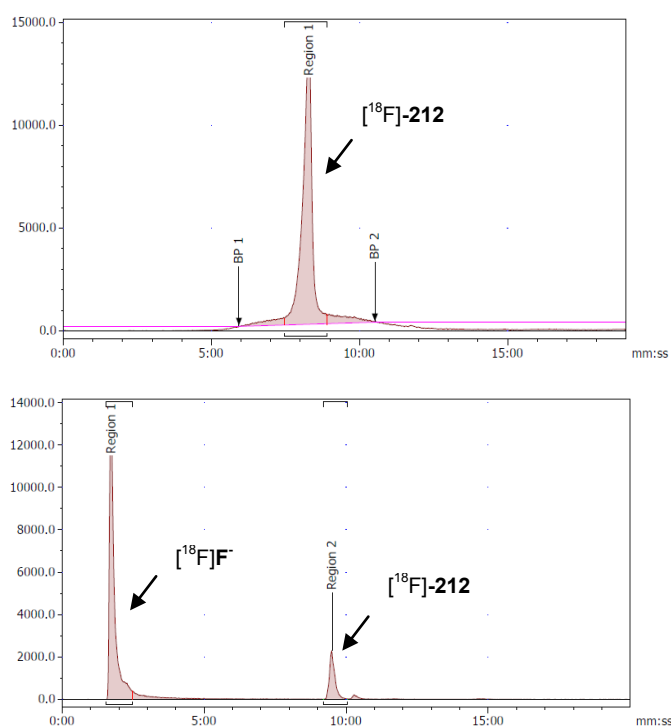


Figure 47: Radio-HPLC profiles of several radiosynthesis of 212

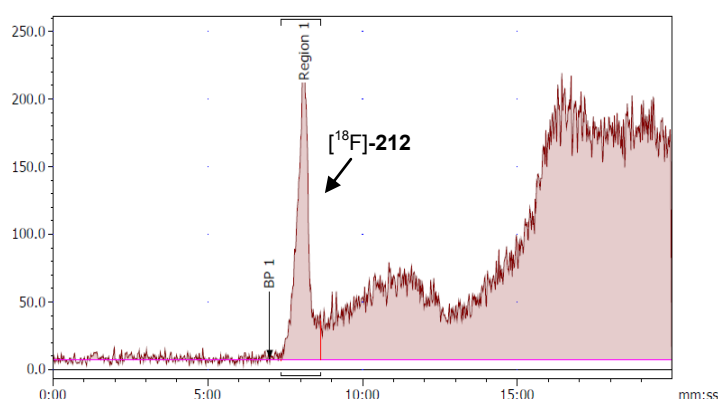
Following this, we have chosen to evaluate the influence of the solvent and the presence of an acidic reagent such as hydrochloric acid in order to overcome this issue (**Table 10**).

Table 10: Radiosynthetic results for the [^{18}F]-labelling of 212

Entry	HCl 0.01 M	Solvent	Conversion (%) ^b
1	- (pH 6)	ACN	15 to 99%
2	- (pH 6)	DMSO	0
3	- (pH 6)	MeOH	7% + degradations
4	10 μL (pH 4.5)	ACN ^a	Insteady baseline, but no free $^{18}\text{F}^-$

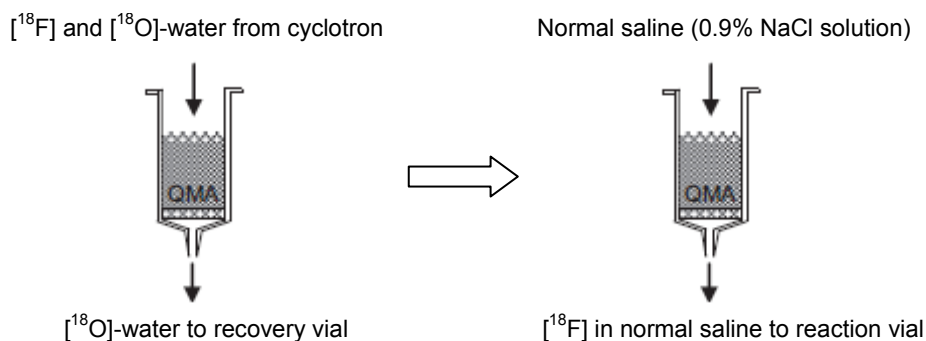
All reactions during 20 min under 80°C in 10 μL of solvent, 149 \pm 28 MBq of [^{18}F]F $^-$. ^a 30 μL of ACN. ^b decay corrected.

According to the obtained results, it appears as though the influence of the solvent is substantial during the isotopic exchange reaction (**Table 10, entries 1-3**). Indeed, using methanol instead of acetonitrile was shown to give a poor conversion and the presence of a new signal on the UV-chromatogram suggesting the degradation of the starting material **212** (**Table 10, entry 3**). Substitution acetonitrile with DMSO, a more polar solvent, showed no incorporation of [^{18}F]-fluoride into the precursor (**Table 10, entry 2**). The isotopic exchange was then, performed in acetonitrile under acidic conditions (pH 4.5) by adding 10 μL of HCl 0.01M (**Table 10, entry 4**). Interestingly, no free [^{18}F]F $^-$ was observed, but the baseline of the chromatogramm was not flat, which could reflect some [^{18}F]-impurities in the vial (**Figure 48**).

**Figure 48: Crude radio-HPLC profile for the labelling of 212 from entry 4 in Table 10**

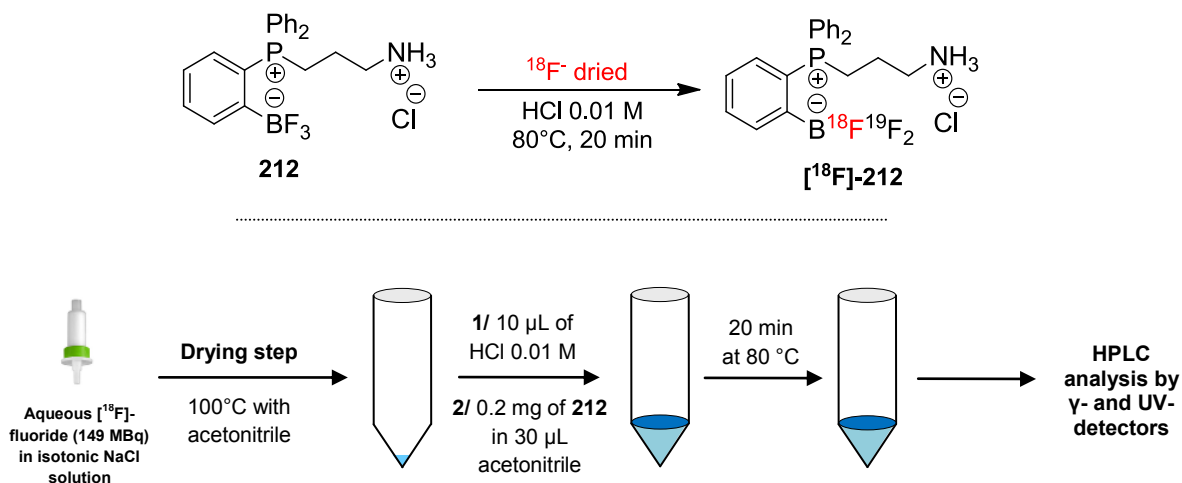
Based on these observations, we hypothesised that the quality of the [^{18}F]-fluoride can play a major role on the reaction. Thus, we decided to separate the [^{18}F]-fluoride from [^{18}O]-water using an ion exchange resin (QMA cartridge)¹³⁹ in order to eliminate the susceptible by-product stemming from the bombardment of the [^{18}O]-water.

Commonly, the isolation of the [^{18}F]-fluoride was achieved by using a small column of anion exchange resin which trap [^{18}F]-anion and allow the [^{18}O]-water to flow through. The pre-activated QMA cartridge was first preconditioned with 6 mL of pure water, 6 mL of saturated brine and finally 6 mL of pure water. The [^{18}F]-fluoride in [^{18}O]-water from cyclotron is then passed to the column and allows its trapping and elimination of [^{18}O]-water. Finally, the [^{18}F]F $^-$ -anions were eluted from the resin into the reaction vial using 0.2 mL of 0.9% NaCl isotonic solution (**Scheme 90**).



Scheme 90: Separation of [^{18}F]-fluoride from [^{18}O]-water

The new experimental protocol is detailed on **Scheme 91**. After the separation and the drying step, 10 μL of HCl 0.01M were added to [^{18}F]-fluoride ion followed by 0.2 mg of **212** dissolved in 30 μL of acetonitrile, and the reaction was performed at 80°C over 20 minutes.



Scheme 91: Direct ^{18}F - ^{19}F isotopic exchange reaction employed for the radiolabelling of **212** in acidic conditions (pH 4.5)

Figure 49 shows the radioactive and corresponding UV-vis HPLC traces of the crude labelling reaction and leads to several important observations as follows:

- There are only two signals on the radio-HPLC chromatogram, one corresponding to free [^{18}F]-fluoride ion and one to the desired [^{18}F]-**212**, indicating the chemoselectivity of the labelling procedure.
- The % conversion at the end of synthesis of [^{18}F]-**212** appears to be 73% when the reaction was carried out starting from 149 ± 28 MBq of [^{18}F] F^- .

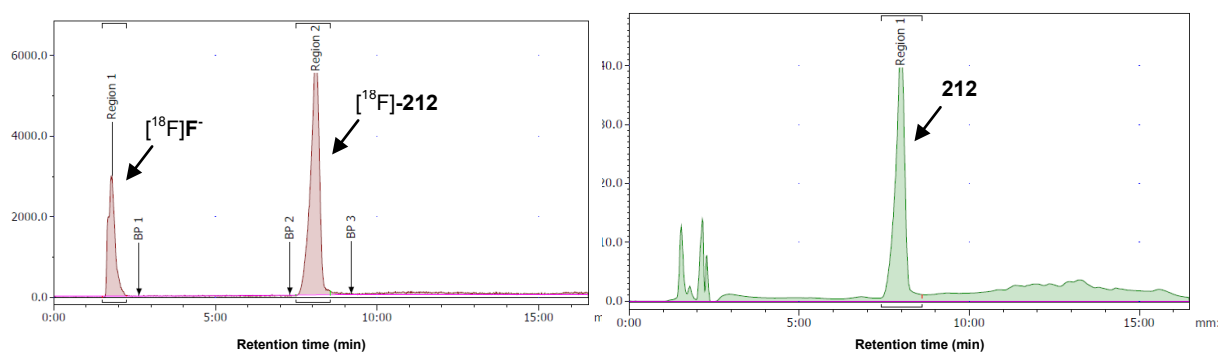


Figure 49: Left: Crude radio-HPLC profile for the ^{18}F -labelling of **212**. Right: UV-HPLC profile of **212** as the standard reference.

Encouraged by these results, which show the importance of the $[^{18}\text{F}]$ -fluoride ion quality for labelling **212**, we next undertook the radiolabelling of **205**, **214** and **215** to determine the applicability of this new procedure. Conversion yields are shown in **Figure 50**.

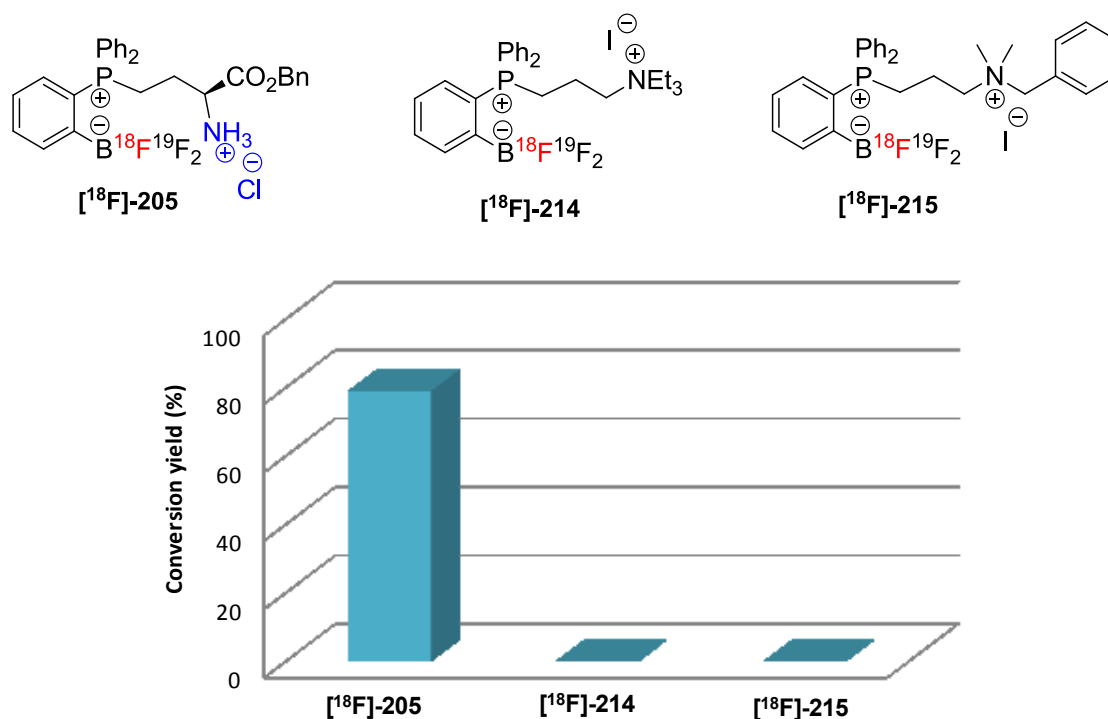


Figure 50: % Conversion of $[^{18}\text{F}]\text{-205}$, $[^{18}\text{F}]\text{-214}$, $[^{18}\text{F}]\text{-215}$

Under optimised conditions, this reaction afforded $[^{18}\text{F}]\text{-205}$ with a % conversion approaching 80%. In contrast, for **214** and **215**, the radioactive and corresponding UV-vis HPLC profiles have shown free fluorine-18, and the absence of the desired compounds, suggesting degradations during the isotopic exchange reaction.

To summarise, in the case of the radiosynthesis of cationic trifluoroborates, the quality of the [^{18}F] F^- strongly influenced the labelling efficiency, most probably due to the presence of contaminants from the cyclotron. By separating the [^{18}F]-ions from [^{18}O]-water on anion exchange resin and under acidic conditions, the efficiency of ^{18}F - ^{19}F isotopic exchange reaction is completely dependent of the sensitivity/stability of the trifluoroborate derivatives used. We further investigated the KHF_2 -carrier added preparation of [^{18}F]-fluoride ion to ascertain the potential usefulness of this method with trifluoroborate phosphonium derivatives.

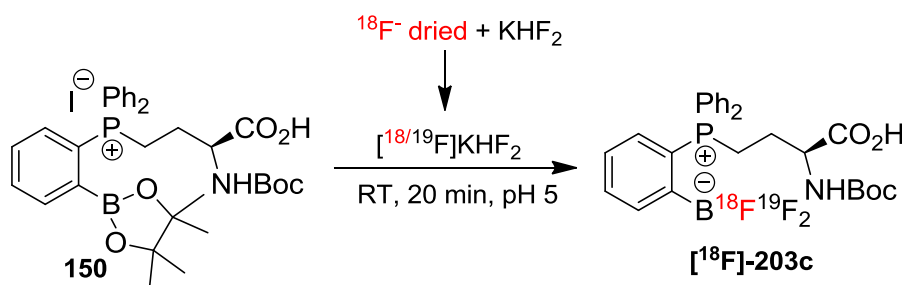
III. By carrier added preparation of [^{18}F] F^- with KHF_2

Trifluoroborate phosphonium derivatives were initially synthesised by the treatment of boronate phosphonium compounds with KHF_2 since this fluorinating agent has been shown to efficiently convert organoboronic acids to the corresponding organotrifluoroborate salts.¹³⁷ A number of [^{18}F]-fluorination reactions of arylboronate derivatives have been described in the recent literature, and, in general, additional acidic reagents have been used. Radiochemical yields range from 3-65% with specific activity values from between 0.1 to 70.3 GBq/ μmol obtained.^{75,76b,135}

However, as our intention was to determine appropriate radiolabelling conditions that are compatible with biomolecules, we have attempted to develop a labelling procedure without the acid reagent. Indeed, some HF is formed when KHF_2 is added to solution that should give a sufficiently acidic pH for the reaction to proceed.

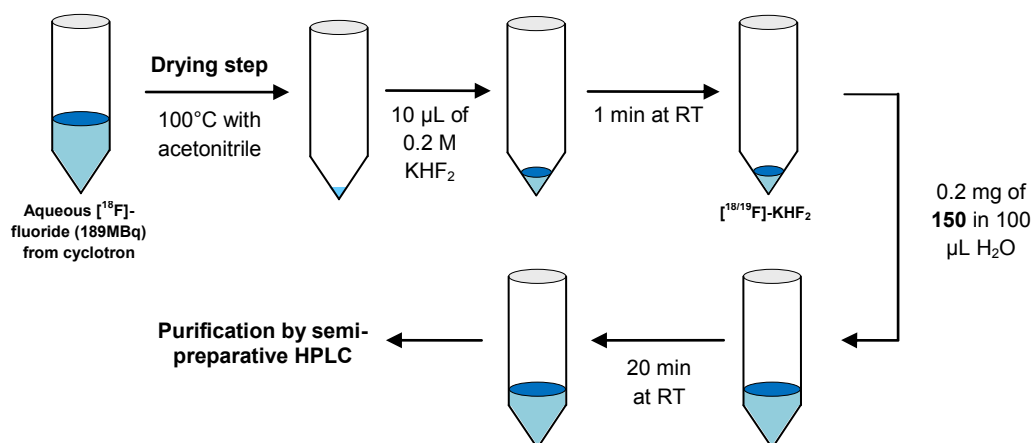
III-1. Radiosynthesis of boronate phosphonium derived from amino acids (148a-b, 150)

As in the previously discussed procedures, compound **150** was chosen as the first candidate for the radiofluorination. In order to introduce fluorine-18 isotope in the molecule, the radioactive [$^{18/19}\text{F}$]- KHF_2 was prepared by simply mixing previously dried $^{18}\text{F}^-$ with cold KHF_2 as illustrated in **Scheme 92**.



Scheme 92: One step aqueous conversion of **150** to [^{18}F]-**203c**

The experimental protocol is shown in **Scheme 93** below. Aqueous carrier [^{19}F]-fluoride (0.2 M KHF_2 , 10 μL) was added to the dried [^{18}F]-fluoride, and was stirred during 1 minute at room temperature. Compound **150** (0.2 mg) was diluted in 100 μL of water and, then mixed with previously formed [$^{18/19}\text{F}$]- KHF_2 to react. A 76% conversion to [^{18}F]-**203c** was observed by HPLC after 20 minutes at room temperature and then, [^{18}F]-**203c** was purified by reversed phase semi-preparative HPLC.



Scheme 93: Experimental protocol of carrier added reaction employed for radiolabelling of **150 at room temperature**

After an overall synthesis time of 50 min, the radiolabelled trifluoroborate derivative [^{18}F]-**203c** was obtained in decay-corrected radiochemical yield of 10%, with a radiochemical purity $\geq 97\%$ (including azeotropic drying of [^{18}F]-, synthesis and purification) and a specific activity of 0.13 GBq/ μmol . As previously, [^{18}F]-**203c** was identified by coinjection with its nonradioactive reference compound **203c** by analytical HPLC.

Encouraging by this positive finding, further screening of temperatures have revealed that 50°C to be very effective, with regard to the formation of [^{18}F]-**203c**, a % conversion of 96% was achieved.¹⁴⁴ We then, have tested the influence of the concentration of [^{19}F]- KHF_2 on the % conversion at 50°C (**Figure 51**).

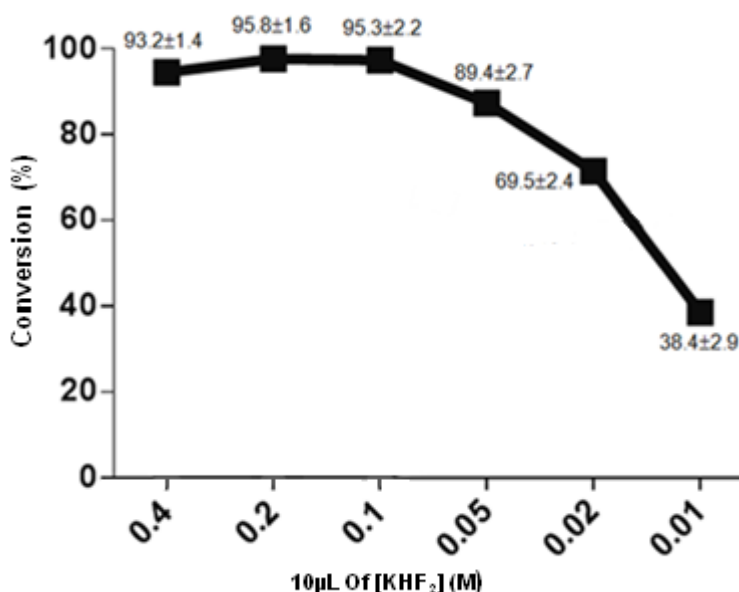


Figure 51: Influence of KHF_2 concentration (10 μL) on the % conversion (decay corrected).
Reaction conditions: KHF_2 , 0.2 mg of 150 diluted in 100 μL of H_2O , 50°C for 20 minutes.

This was unsurprising since the reaction conditions with higher KHF_2 concentration that benefit the formation of the radioactive compound with high % conversion, also benefit the formation of the cold trifluoroborate phosphonium derivative **203c**, which could have a negative impact on SA. However, when a lower quantity of KHF_2 is employed as 0.02 or 0.01 M, a net decrease in the extent of the % conversion is observed (*i.e* 70 and 38%, respectively).¹⁴⁴

Using the optimal conditions determined in the formation of the radiolabelled trifluoroborate [^{18}F]-**203c**, the analogous compounds [^{18}F]-**203a-b** were prepared. Two sets of conditions were selected to optimise % conversion and the second to give a satisfactory % conversion by using low [^{19}F]-carrier added, and the results are detailed in **Table 11**.

Table 11: Radiofluorinations of [^{18}F]-148a-c using [$^{18/19}\text{F}$] KHF_2

Precursor	KHF_2 []	Conversion (%) ^{a,c}
148a	0.02 M	81±6
	0.002 M	60±7
148b	0.02 M	65±2
	0.002 M	53±2
148c	0.02 M	96±2
	0.002 M	70±1

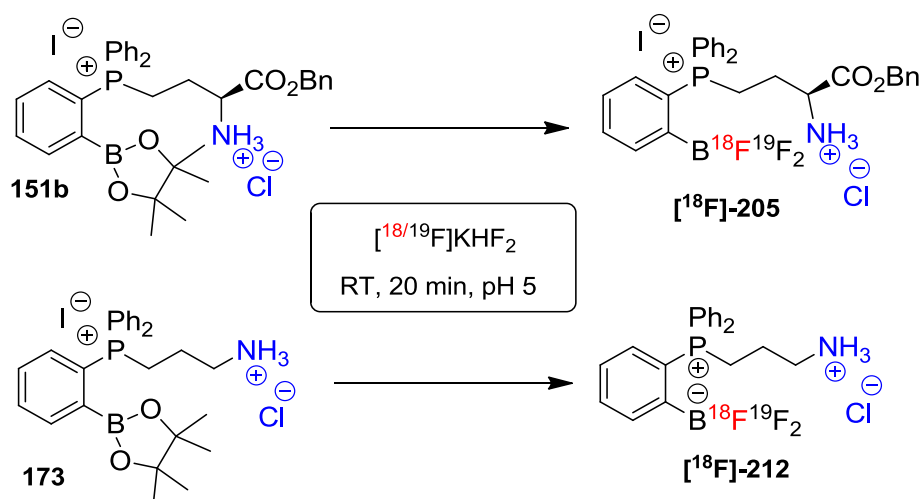
All reactions during 20 min under 50°C in 100 μL of H_2O , 189±23 MBq of [^{18}F] F^- . ^adecay corrected. ^bend of synthesis. ^cthe reactions have been repeated three times with the % conversion representing the average of these three measurements.

When the reaction is carried out under 0.02 M of KHF_2 for both acid and ester derivatives, the % conversion range from 65 to 96%, what is comparable to literature datas.¹⁴³ When a lower concentration of KHF_2 (0.002 M) is employed, a slight decrease of the conversion (53-70%) is observed.¹⁴⁴

In contrast to the direct isotopic exchange reaction previously presented, the salient advantages of this labelling procedure are the use of aqueous conditions at mild temperature without additive acid reagent that are more appropriate for the radiolabelling of biomolecules.

III-2. KHF_2 carrier added reaction extend to cationic trifluoroborate derivatives

The use of the KHF_2 -carrier added strategy for labelling trifluoroborates was continued with cationic trifluoroborates such as **151b** and **173**, which are desirable candidates for use as mitochondrial imaging agents (**Scheme 94**).



Scheme 94: One step aqueous fluorination of **151b** and **173** to $[^{18}\text{F}]$ -**205** and $[^{18}\text{F}]$ -**212** respectively

Some slight modifications of the labelling reaction were made. Cationic derivatives are sensitive to the $[^{18}\text{F}]$ -fluoride ions quality, and so, aqueous $[^{18}\text{F}]$ -fluoride was trapped on a pre-activated QMA cartridge and release using an NaCl 0.9% solution (isotonic saline), before being concentrated at 100°C with acetonitrile as carried out for the isotopic exchange reaction. The carrier added reaction was initially studied in aqueous media (**Table 12, entries 1-2**), a set of conditions that has proven effective for the radiolabelling of trifluoroborate amino acid species.

Table 12: Radiosynthetic results for the [^{18}F]-labelling of 151b and 173

Entry	Precursor	Solvent (100 μL)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Conversion (%) ^{a,b}
1	151b	H_2O / MeOH (9/1)	50	15 \pm 3
2	173			40 \pm 2
3	151b	H_2O / MeOH (9/1)	80	25 \pm 5
4	173			<2
5	151b	HCl 0.01M solution / MeOH (9/1)	50	41 \pm 1
6	173			0

All reactions were performed during 20 min with 10 μL of KHF_2 0.2M and 149 ± 28 MBq of [^{18}F] F^- . ^a decay corrected. ^b the reactions have been repeated two times with the RCY representing the average of these two measurements.

Unfortunately, this reaction afforded a low conversion for [^{18}F]-205 (Table 12, entry 1). However, the % conversion of [^{18}F]-205 could be improved by up to 25% on increasing the reaction temperature from 50 to 80 $^{\circ}\text{C}$ (Table 12, entry 3).

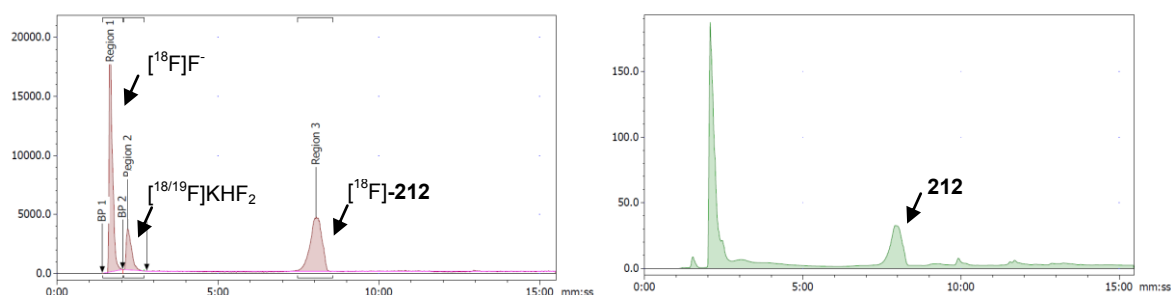


Figure 52: Left: Crude radio-HPLC profile for the ^{18}F -labelling of 173. **Right:** UV-HPLC profile of 212 as the standard reference.

Figure 52 shows representative radiosynthetic data from radiosynthesis of 173 (Table 12, entry 2), and leads to several observations as follows:

- There are only three radiopeaks, one corresponding to free [^{18}F]-fluoride ion, one to the [$^{18/19}\text{F}$] KHF_2 and one to the desired [^{18}F]-212, which are consistent with a high chemoselective reaction based on the fluorophilicity of boron.
- The % conversion at the end of synthesis of [^{18}F]-212 appears to be 41% when the reaction was carried out with 149 ± 23 MBq of [^{18}F] F^- .

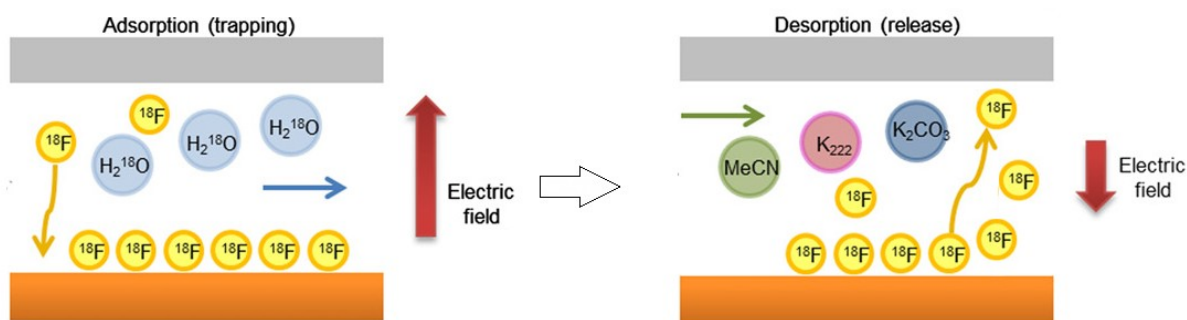
Nevertheless, increasing the temperature for the radiolabelling of 173 only afforded a trace amount of [^{18}F]-212 (<2% yield). These results led us to investigate the radiofluorination of 151b and 173 using HCl as an acidic reagent at 50 $^{\circ}\text{C}$ (Table 12, entries 5-6). Under these conditions, this reaction only afforded [^{18}F]-205 with a conversion approaching 40%.

The results obtained provided some important informations about the sensitive nature of the different precursors used. Indeed, the use of high temperature or acidic conditions was

complicated since the degradation of the starting precursor **173** was observed. In contrast, the labelling proceeded of **151b** proved to have a high efficiency under acidic conditions.

We also noticed that the % conversion were lower than those obtained previously (> 73% for trifluoroborate amino acids [^{18}F]-**203a-c**), a phenomenon which could be a result of chloride contamination from the separation of [^{18}F]-fluoride from [^{18}O]-water. Moreover, when the trapped [^{18}F] F^- was eluted from the column with a small quantity of water containing K_2CO_3 , the labelling of **151b** and **173** show no incorporation of fluoride due to the induce basicity from potassium carbonate.

Faced with these limitations, we decided to investigate the use of an alternative [^{18}F]-fluoride preparation by an electrode trapping method.^{145,146} This approach of separation involves two steps: adsorption and desorption (release). First, aqueous [^{18}F]-fluoride is passed through an electrochemical cell with an electric field applied to trap the negatively charged [^{18}F]-fluoride ions on the positively charged adsorption electrode. Then, after washing the cell with acetonitrile, the trapped [^{18}F]-fluoride-18 was released into a 0.3 mL solution of ACN-4% H_2O containing K_{222} and KHCO_3 by applying a reversed voltage (Scheme 95).



Scheme 95: Electrochemical separation of [^{18}F]-fluoride ions from bulk [^{18}O]-water

A preliminary attempt using this alternative [^{18}F]-fluoride preparation was carried out for labelling of **173** at 50°C during 20 minutes under the following condition : 0.2 mg of **173** in 90 μL H_2O / 10 μL MeOH, 0.02M of KHF_2 and 90 ± 10 MBq of [^{18}F] F^- . Remarkably, this reaction afforded [^{18}F]-**210** with a conversion of $78\pm 5\%$. Further optimisation of the labelling procedure using this alternative [^{18}F]-fluoride separation from [^{18}O]-water is being explored in order to further improve specific activity.

¹⁴⁵ Sadeghi, S.; Liang, V.; Cheung, S.; Woo, S.; Wu, C.; Ly, J.; Deng, Y.; Eddings, M.; van Dam, R. M. *Appl. Rad. Iso.* **2013**, 75, 85.

¹⁴⁶ He, P.; Haswell, S. J.; Pamme, N.; Archibald, S. J. *Appl. Rad. Iso.* **2014**, 91, 64.

IV. Serum stability assay of [^{18}F]-203a-c

Although the [^{18}F]-**203a-c** showed high hydrolytic stability in phosphate buffer, we further evaluated their stability in human serum at 37°C over a period of several hours. After 5 hours of incubation, the radiochemical purity observed had only altered by 4.8±4% for all compounds.

It was also noticed that the small amounts of impurities observed in serum for [^{18}F]-**203a-b** after 5 hours were mainly due to a degradation of the ester protection into the acid form [^{18}F]-**203c** than the release of [^{18}F]-fluoride from the molecules. These results indicated the remarkable resistance to hydrolysis of these derivatives in this biological matrix.

Thus, the high stability demonstrated by the radiolabelled compounds can be correlated with the fact that the [$^{18/19}\text{F}$]-trifluoroborate group is in the *ortho* position relative to the phosphonium moiety allowing an ionic interaction and a steric hindrance that could inhibit hydrolysis.

V. Conclusion

This last chapter has reported the [^{18}F]-radiofluorination of phosphonium boronate and trifluoroborate derivatives achieved using two different methods, by direct isotopic exchange with dry [^{18}F]-fluoride ions or by carrier added preparation of [^{18}F]-fluoride ions (*i.e.* [$^{18/19}\text{F}$]KHF₂).

The potential of these two radiofluorination approaches was studied using phosphonium amino acid derivatives ([^{18}F]-**203a-c**). A comparison of the different methods is given in **Table 13**.

Table 13: Comparison of isotopic exchange and carrier added approaches of [^{18}F]-203a-c

Parameters	Isotopic Exchange	Carrier Added Reaction
Conversion (%)	>90	38-95
Synthesis time (min)	20	20
Temperature (°C)	80	50
Solvent	ACN	Water
Azeotropic drying	Yes	Yes
Separation [^{18}F]-ions from [^{18}O]-water	Not Requested	Not Requested

Thus, both approaches proceed without separation of [^{18}F]-fluoride ions from the bulk enriched water, but an azeotropic drying step is necessary. Most strikingly, the carrier added labelling reaction occurs in water at 50°C allowing the potential labelling of more sensitive biomolecules, whereas isotopic exchange labelling conditions are slightly more challenging

(ACN, 80°C). It is also noteworthy that isotopic exchange gives better % conversion. In addition, consistent with ^{19}F -NMR solvolysis data, the [^{18}F]-**203a-c** also showed high stability in human serum at 37°C over a 5 hours period.

Next, both radiosynthesis methods were investigated using cationic phosphonium derivatives ([^{18}F]-**205**, **-212**, **-214**, **-215**). Important parameters are featured in table 14. In this case, the quality of the [^{18}F]-fluoride has been a paramount factor which strongly influences the efficiency of the labelling procedure, and so, a separation of [^{18}F]-ions from bulk [^{18}O]-water is essential. This could be done either by using an ion exchange resin or by an electrochemical method. In addition, the radiolabelling of this set of compound was achieved in the presence of an additive acid agent except for the labelling of **173** by KHF_2 -carrier added method, where the optimal % conversion is obtained when using only water and methanol. Comparing the two methods, isotopic exchange reaction give better % conversions. Further optimisations are ongoing.

Table 14: Comparison of isotopic exchange and carrier added approaches of [^{18}F]-205**, **-212**, **-214**, **-215****

Parameters	Isotopic Exchange	Carrier Added Reaction
Conversion (%)	73-80	40-41
Synthesis time (min)	20	20
Temperature (°C)	80	50
Solvent	ACN+HCl 0.01M	Water/ MeOH for 173 HCl 0.01M/ MeOH for 151b
Azeotropic drying	Yes	Yes
Separation [^{18}F]-ions from [^{18}O]-water	Using NaCl 0.9%	Using NaCl 0.9%

Finally, these reported [^{18}F]-radiolabelling methods are all relevant since in the targeting of a cellular receptor, it would be important to define the paramount factor between SA or RCY. Indeed, the SA is not highly relevant to trifluoroborate phosphonium salt application in targeting mitochondria receptor, where molecular charge and lipophilicity are key to uptake, thus, the isotopic exchange reaction is clearly the preferred procedure. In contrast, for the application to specific receptor targeting, the radiolabelling method in which we achieved a higher SA would be the most appropriate.

Thus, this study demonstrated the applicability of these boron-based one-step labelling procedures in the presence of amino acids, protecting groups (Boc, Bn, All...) and cationic functional groups. The radiolabelling could be done in the last step of the synthesis by fast reactions and in mild conditions affording promising radiochemical yields. In order to demonstrate the potentials of these derivatives for *in vivo* PET imaging, purifications by semi-preparative, SA calculations and biodistribution studies are currently under investigation at the PET Research Centre at the University of Hull.

Chapter 5

Experimental part

I. Materials and analytical procedures

I-1. Analytical procedures

Nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR)

NMR spectra (^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{19}F and ^{11}B) were recorded with 300 and 500 MHz apparatus, at ambient temperature using TMS as internal reference for ^1H and ^{13}C NMR, phosphoric acid (85%) as external reference for ^{31}P NMR, CFCl_3 as external reference for ^{19}F NMR and $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ as external reference for ^{11}B NMR.

Abbreviations used to describe the multiplicity of the signal are:
s = singlet, d= doublet, t= triplet, q= quartet, bs= broad signal, m= multiplet, J= coupling constant in Hertz (Hz).

Mass spectrum

Mass spectra were performed under (ESI) conditions with a Thermo LTQ Orbitrap XL or Bruker Amazon SL instruments.

Melting points

Melting points were measured using a K f ler melting points apparatus and are uncorrected.

Optical rotation

Optical rotation values were measured at 20 C on a PERKIN ELMER instrument, at 589 nm (sodium lamp) determined by the following relation:

$$[\alpha]_D = (\alpha_{lu} \times 100) / (c \times l)$$

α_{lu} rotation angle read on spectrometer
c sample concentration in g / 100 mL
l path length in dm (l = 1 dm)

FTIR

FTIR spectra were recorded on a BRUKER ATR Vector 22 spectrophotometer. Absorption bands are given in cm^{-1} .

Elemental analysis

Elemental analyses were determined with a CHNS/O Thermo Electron Flash EA 1112 instrument.

HPLC

HPLC was performed through an Agilent 1200 series with a 254 nm UV detector (Agilent technologies, USA) and effluent radioactivity was monitored using a NaI crystal coupled to a photomultiplier tube (LabLogic Systems Limited, UK). An analytical Gemini 5  C18 150*4.60 mm reverse phase column (Phenomenex Inc, UK) was used. Gradients for purification are listed below:

Method A: solvent A (ACN+0.1% TFA), solvent B (H_2O +0.1% TFA); 0-2 min 40% A, 2-10 min 40 to 70% A, 10-20 min 70% A; flow rate: 1 mL/min

Method B solvent A (ACN), solvent B (H_2O); 0-3 min 10% A, 3-10 min 10 to 70% A, 10-13 min 70% A; flow rate: 1 mL/min

Method C: solvent A (ACN), solvent B (H_2O); 0-2 min 20% A, 2-10 min 20 to 70% A, 10-20 min 70% A; flow rate: 1 mL /min

I-2. Materials

All reagents were purchased either from Acros Organics, Sigma-Aldrich, Fischer Scientific, Alfa Aesar and Abcr.

All chemicals were reagent grade and used without further purification.

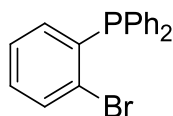
THF, diethyl ether, toluene and dichloromethane were dried on a MB-SPS-800 instrument.

Column chromatography were conducted on silica gel 60A (35-70 μ m), obtained from E. Merck.

Fluorine-18 (^{18}F) was produced by the $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ nuclear reaction using a 7.5MeV ABT Biomarker Generator cyclotron (ABT Molecular imaging, Inc, USA) and [^{18}O] $\text{H}_2\text{O} \geq 98\%$ (Rotem Industries Ltd., Israel).

II. Experimental processes

(2-Bromophenyl)diphenylphosphine **127**¹⁴⁷

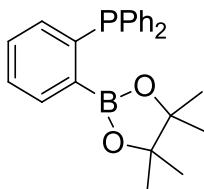


To a solution of 1,2 dibromobenzene **126** (2.57 mL, 20 mmol) in Et₂O/THF (25 mL/15 mL) at -110°C was added dropwise a solution of *n*-BuLi (2.5 M in hexane, 8.2 mL, 20.5 mmol). After 15 minutes of stirring at -110°C, a precipitate appeared and, Ph₂PCl (3.6 mL, 20 mmol) was added. The mixture was allowed to warm to room temperature. The solvent was evaporated and then, the resulting mixture was extracted by chloroform. The filtrate was evaporated, and the residue was purified by silica gel chromatography (Toluene/Pentane 1:4) to give a **white solid** (*m*= 4.97 g, yield= 72%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6.77-6.80 (m, 1H, CH_{arom}), 7.20-7.40 (m, 12H, CH_{arom}), 7.60-7.64 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ -5.01

Diphenyl(2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)phosphine **125**¹⁰⁵

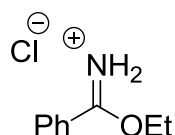


Under Ar atmosphere, to a solution of *o*-bromo phenyl phosphine **127** (0.68 g, 2 mmol) in dry THF (5 mL) at -78°C, was added dropwise a solution of *n*-BuLi (2.5 M in hexane, 1.28 mL, 3.2 mmol). The resulting mixture was stirred at -78°C for 1 hour followed by the addition of 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (0.64 mL, 3.6 mmol). After stirring for 30 minutes at -78°C, the mixture was allowed to warm to room temperature overnight. The mixture was hydrolyzed with 20 mL of water, and extracted with dichloromethane (2*10 mL). The organic layer was dried on MgSO₄, and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography (AcOEt/EP 0.5:5) to give a **white solid** (*m*= 0.66 g, yield= 85%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.12 (s, 12H, CH_{3-pin}), 6.79-6.83 (m, 1H, CH_{arom}), 7.27-7.33 (m, 12H, CH_{arom}), 7.78-7.85 (m, 1H, CH_{arom})

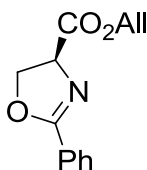
³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ -4.17

¹⁴⁷ Reetz, M. T.; Gosberg, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 10, 2129.

Phenyl imino ethyl ether chloride 131¹⁰⁹

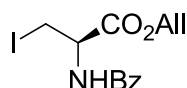
Gaseous HCl was bubbled for 3 hours in a solution of benzonitrile **130** (25.5 mL, 0.25 mol) in 22 mL of ethanol were stirred at 0°C, then the reaction mixture was stirred for 1 hour at room temperature. A precipitate was observed, filtered and washed with chloroform to eliminate HCl excess. A second washing with ether allows unreacted benzonitrile elimination and affords a **white solid** (**m**= 43.44 g, **yield**= 94%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.61 (t, J= 7.0 Hz, 3H, CH₃), 4.94 (q, J= 7.0 Hz, 2H, CH₂), 7.53- 7.59 (m, 2H, CH_{arom}), 7.67-7.70 (m, 1H, CH_{arom}), 8.38-8.41 (m, 2H, CH_{arom}), 11.93 (bs, 1H, NH), 12.63 (bs, 1H, NH)

(S)-2-Phenyl-4-allyloxycarbonyl-2-oxazoline 132¹⁰⁰

Gaseous HCl was bubbled for 4 hours in a solution of L-Serine (1.5 g, 14.25 mmol) in 30 mL of allylic alcohol. After stirring 1 night at 100°C, the allylic alcohol excess was evaporated to afford a L-serinate hydrochloride **129**. Without further purification, the residue was dissolved in 70 mL of chloroform with triethylamine (2.3 mL, 17.0 mmol). After total dissolution, phenyl imino ethyl ether hydrochloride **131** (3.1 g, 16.5 mmol) was then added and the mixture refluxed for 24 hours. The solvent was evaporated and, triethylamine hydrochloride was precipitated by adding ether and was filtered. After removing the solvent, the residue was purified by chromatography on silica gel with EP/AcOEt (2:1) to afford a **colorless solid** (**m**= 2.18 g, **yield**= 60%).

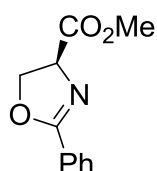
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4.70-4.75 (m, 4H, OCH₂+CO₂CH₂), 4.99 (dd, J= 8.8, 10.6 Hz, 1H, CH), 5.23-5.33 (m, 2H, CH₂=), 5.88-5.95 (m, 1H, CH=), 7.35-7.50 (m, 3H, CH_{arom}), 7.84-7.88 (m, 2H, CH_{arom})

(R)-Allyl-2-benzamido-3-iodo-propanoate 122a¹⁰⁰

Under Ar atmosphere, oxazoline allyl ester **132** (2.14 g, 9.22 mmol) and iodotrimethylsilane (1.6 mL, 11.2 mmol) were dissolved in 30 mL of chloroform stabilized by amylene. After 48 hours of stirring at room temperature, the mixture was hydrolyzed by water (10 mL), and then, the organic layer was washed with Na₂S₂O₃ solution (1M). The organic layer was dried over MgSO₄, the solvent evaporated, and the residue recrystallized in hexane/benzene to give a **white solid** (m= 1.5g, yield= 46%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.71-3.79 (m, 2H, CH₂I), 4.74-4.78 (m, 2H, OCH₂), 4.99-5.03 (m, 1H, CH), 5.31-5.45 (m, 2H, CH₂=), 5.91-6.04 (m, 1H, CH=), 6.94-6.96 (bs, 1H, NHBz), 7.42-7.57 (m, 3H, CH_{arom}), 7.84-7.88 (m, 2H, CH_{arom})

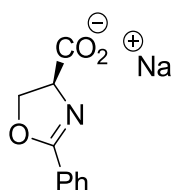
(S)-2-Phenyl-4-methoxycarbonyl-2-oxazoline 136¹⁰⁰



A round bottom flask equipped with a magnetic stirrer and a reflux condenser was charged with L-methyl serinate hydrochloride **135** (3.12 g, 20 mmol), chloroform (100 mL) and triethylamine (3 mL, 22 mmol). The mixture was stirred at room temperature until dissolution. Phenyl imino ethyl ether hydrochloride **131** (3.70 g, 20 mmol) was then added and the mixture refluxed for 24 hours. The solvent was evaporated and, triethylamine hydrochloride was precipitated by adding ether and was filtered. After removing the solvent, the residue was purified by chromatography on silica gel with hexane/AcOEt (3:1) to afford a **colorless solid** (m= 3.47 g, yield= 84%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.84 (s, 3H, CH₃), 4.58-4.74 (m, 2H, CH₂O), 4.94- 5.00 (m, 1H, CHN), 7.40-7.52 (m, 3H, CH_{arom}), 7.98-8.01 (m, 2H, CH_{arom})

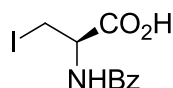
(S)-2-Phenyl-4-(sodium carboxylate)-2-oxazoline 137¹⁰⁰



Methyl oxazoline **136** (3.47 g, 16.7 mmol) was stirred at room temperature in a 2M aqueous solution of NaOH (8 mL) for 3 hours. Water (1.3 mL, 7.2 mmol) was then added, and the mixture poured into acetone (50 mL) to precipitate the salt. After filtration, 3.5 g of the colorless salt (m= 3.5 g, yield= 98%) were obtained.

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 4.41-4.45 (m, 1H, CHN), 4.68-4.70 (m, 2H, CH₂), 7.42-7.55 (m, 3H, CH_{arom}), 7.85-7.87 (m, 2H, CH_{arom})

(R)-2-Benzamido-3-iodopropanoic acid 122b¹⁰⁰



Under Ar atmosphere, oxazoline salt **137** (0.5 g, 2.35 mmol), iodotrimethylsilane (1.34 mL, 9.39 mmol) and 85 µL of water were dissolved in 10 mL of chloroform stabilized by amylene. After 48 hours of stirring at room temperature, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in acetone, and the NaI was removed. The filtrate was hydrolyzed by a KHCO₃ solution (1M, 10 mL), and the aqueous phase was washed with AcOEt (2*30 mL), and acidified with NaHSO₄ solution (1M) until pH= 3. Then, the aqueous layer was extracted by AcOEt (2*30 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, and the solvent evaporated to give a **yellow solid (m= 0.37 g, yield= 50%)**.

¹H NMR (300 MHz, Acetone d₆): δ 3.73 (dd, J= 6.9, 10.2 Hz, 1H, CH₂I), 3.86 (dd, J= 4.5, 10.2 Hz, 1H, CH₂I), 4.86- 4.92 (m, 1H, CHN), 7.48-7.61 (m, 3H, CH_{arom}), 7.85-7.86 (m, 1H, NH), 7.93-7.96 (m, 2H, CH_{arom})

¹³C NMR (75 MHz, Acetone d₆): δ 5.18 (CH₂I), 53.92 (CHN), 127.29 (CH_{arom-Bn}), 128.46 (CH_{arom-Bn}), 131.66 (CH_{arom-Bn}), 134.05 (C_q), 166.47 (CO_{Bn}), 169.84 (CO)

HRMS calculated for C₁₀H₁₀NO₃I [M+Na]⁺: 341.95976 found 341.95858

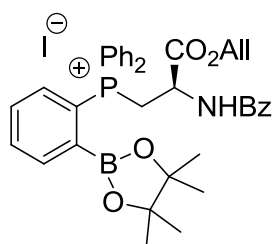
mp: 98°C; **[α]_D:** -7.75 (c= 0.4, Acetone), **ee** > 90%*

FT-IR (cm⁻¹): 3282, 3032, 2973, 2925, 2598, 1965, 1903, 1707, 1643, 1603, 1578, 1520, 1487, 1446, 1419, 1331, 1295, 1244, 1192, 1169, 1096, 1026, 999, 929, 852, 818, 798, 754, 719, 691

Elemental Analysis calculated for C₁₀H₁₀INO₃ (319.00): C 37.64, H 3.16, N 4.39 found C 37.54, H 3.31, N 4.66

* By ³¹P NMR analysis of the corresponding phosphonium salt **138b**

(R)- {[3- (Allyloxy) -2- benzamido - 3 -oxopropyl] diphenyl [2- (4,4,5,5 -tetramethyl -1,3,2 -dioxaborolan-2-yl) phenyl]} phosphonium iodide 138a¹¹⁰



Under Ar atmosphere, to a solution of *o*-boronato phenyl phosphine **125** (0.28 g, 0.7 mmol) in 1 mL of dry toluene was added iodo amino ester **122a** (0.28 g, 0.6 mmol). After 1 night of stirring at 60°C, the solvent was evaporated and then, the residue was purified by column chromatography (DCM/Acetone 2:1) to afford a **white solid** (**m**= 0.23 g, **yield**= 55%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.96-0.99 (2s, 12H, CH_{3-pin}), 4.56-4.74 (m, 4H, OCH₂+P⁺CH₂), 5.09-5.19 (m, 2H, CH₂=), 5.23-5.25 (m, 1H, CHN), 5.77-5.81 (m, 1H, CH=), 7.37-8.02 (m, 18H, CH_{arom}), 8.23-8.25 (m, 1H, CH_{arom}), 9.01-9.03 (m, 1H, NH)

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +26.26

¹¹B NMR (96 MHz, CDCl₃): No signal observed

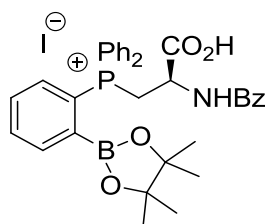
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 24.18 (CH_{3-pin}), 24.47 (CH_{3-pin}), 26.94 (d, J= 52.2 Hz, P⁺CH₂), 48.16 (d, J= 2.2 Hz, CHN), 66.94 (OCH₂), 85.43 (C_{q-pin}), 118.48 (CH₂=), 120.90 (d, J= 86.0 Hz, P⁺C_q), 121.71 (d, J= 87.5 Hz, P⁺C_q), 122.54 (d, J= 83.8 Hz, P⁺C_q), 128.12 (CH_{arom-Bn}), 128.25 (CH_{arom-Bn}), 129.88 (d, J= 10.6 Hz, CH_{arom-Ph}), 130.00 (d, J= 10.6 Hz, CH_{arom-Ph}), 131.32 (CH_{arom-Bn}), 131.82 (CH=), 132.12 (d, J= 16.6 Hz, CH_{arom-PhB}), 132.23 (C_{q-Bn}), 133.47 (d, J= 9.3 Hz, CH_{arom-Ph}), 133.74 (d, J= 3.0 Hz, CH_{arom-PhB}), 133.91-134.04 (m, 2CH_{arom-Ph}), 136.84 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 139.21 (d, J= 13.6 Hz, CH_{arom-PhB}), 167.35 (CO), 170.10 (d, J= 12.8 Hz, CO), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₇H₄₀BNO₅P [M-I]⁺: 620.27381 found 620.27255

mp: 132°C; **[α]_D:** -11.73 (c= 0.3, CHCl₃), **R_f:** 0.43 (DCM/Acetone 2:1)

FT-IR (cm⁻¹): 3229, 2981, 1981, 1733, 1658, 1582, 1520, 1483, 1436, 1375, 1340, 1272, 1219, 1169, 1140, 1108, 1052, 1028, 995, 962, 852, 826, 749, 713, 689

(R)- (2-Benzamido-2-carboxyethyl) diphenyl [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium iodide 138b¹¹⁰



Under Ar atmosphere, to a solution of *o*-boronato phenyl phosphine **125** (0.22 g, 0.55 mmol) in 1 mL of dry acetonitrile was added iodo amino acid **122b** (0.13 g, 0.4 mmol). After 1 night of stirring at 60°C, the solvent was evaporated. The residue was concentrated in dichloromethane and then, precipitated with ether to afford a **white solid** (**m**= 0.19 g, **yield**= 70%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.94, 0.98 (2s, 12H, CH_{3-pin}), 4.66-4.70 (m, 1H, P⁺CH₂), 4.75-4.88 (m, 1H, P⁺CH₂), 5.24-5.27 (m, 1H, CHN), 7.37-7.91 (m, 16H, CH_{arom}), 8.01-8.03 (m, 2H, CH_{arom}), 8.21-8.23 (m, 1H, CH_{arom}), 8.97 (d, J= 10.0 Hz, 1H, NH)

³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ +26.01

¹¹B NMR (160 MHz, CDCl₃): No signal observed

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 24.32 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 24.41 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 26.40 (d, $J = 55.1$ Hz, P^+CH_2), 49.39 (CHN), 85.55 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 120.64 (d, $J = 88.5$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 121.75 (d, $J = 83.1$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 122.14 (d, $J = 88.5$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 128.32 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 128.41 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 130.02 (d, $J = 12.7$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 130.19 (d, $J = 12.7$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 131.38 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 132.29 (d, $J = 13.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 132.36 ($\text{C}_{\text{q-Bn}}$), 133.16 (d, $J = 9.3$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.92 (d, $J = 3.0$ Hz, CH_{arom}), 134.00 (d, $J = 10.1$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.13 (d, $J = 2.7$ Hz, CH_{arom}), 134.18 (d, $J = 2.7$ Hz, CH_{arom}), 137.08 (d, $J = 12.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 139.17 (d, $J = 14.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 168.70 (CO), 170.79 (d, $J = 10.7$ Hz, CO), 1 C_{q} not observed

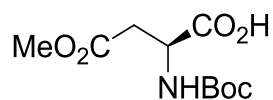
HRMS calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{BNO}_5\text{P}$ $[\text{M-I}]^+$: 580.24246 found 580.24158

mp: 152°C; $[\alpha]_{\text{D}}$: -8.27 ($c = 0.3$, Acetone), **ee** > 90%*

FT-IR (cm^{-1}): 3054, 2979, 2931, 1981, 1906, 1731, 1657, 1580, 1524, 1484, 1437, 1375, 1340, 1271, 1212, 1167, 1140, 1108, 1052, 997, 961, 852, 824, 746, 714, 690

* By ^{31}P NMR analysis of the phosphonium salt in the presence of 2-(dimethylamino)-1-phenylpropan-1-ol

(S)-2-[(*t*-Butyloxycarbonyl)amino]-3-methoxycarbonylbutanoic acid 143⁸⁵



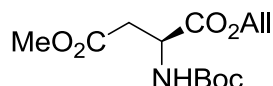
L-aspartic acid **142** (5 g, 37.6 mmol) was added at 0°C to a solution of SOCl_2 (3.8 mL, 41.2 mmol) in MeOH (26 mL). After 2h of stirring at room temperature, 75 mL of ether were introduced and a precipate appeared. After filtration, the solid (4.64 g, 25.2 mmol) was dissolved in a dioxane/water mixture (2:1). The reaction mixture was lowered at 0°C, before the adding of Na_2CO_3 (2.74 g, 25.8 mmol). After 30 min of stirring at 0°C, Na_2CO_3 (2.74 g, 25.8 mmol) were added again, followed by Boc_2O (6.20 g, 28.4 mmol), and the reaction was stirred overnight at room temperature. After solvent evaporation, water (60 mL) was poured into the solution, and the aqueous layer was washed with diethyl ether (2*25 mL), and acidified with NaHSO_4 solution (1M) until pH= 3. Then, the aqueous layer was extracted by ether (2*75 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , and, the residue was purified by chromatography using pure ethyl acetate as eluent to afford the corresponding monoester (**m= 5.91 g, yield= 65%**) as **colorless oil**.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.46 (s, 9H, CH_3), 2.86 (dd, $J = 5.0, 17.0$ Hz, 1H, CH_2), 3.01 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H, CH_2), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.59-4.62 (m, 1H, CHN), 5.56 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, NH-Boc), 10.8 (s, 1H, CO_2H)

General procedure for the preparation of *N*-Boc diesters 144

To a solution of derivatives **143** (1 eq) in 100 mL of DMF were introduced K_2CO_3 (1.5 eq) and allyl or benzyl bromide (2.2 eq). After stirring overnight the mixture, 60 mL of water was added, the aqueous layer was extracted with 3*75 mL of ethyl acetate, and the combined organic layers were dried over $MgSO_4$. After evaporation of the solvent, the residue was purified by chromatography using a mixture petroleum ether/ ethyl acetate (4:1) as eluent.

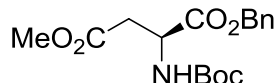
(*S*)-2-[(*tert*-Butyloxycarbonyl)amino]-1-allyl-4-methyl succinate **144a**⁸⁵



Under the above conditions, compound **143** (5.6 g, 22.7 mmol), K_2CO_3 (4.6 g, 34.5 mmol) and allyl bromide (3.9 mL, 45.4 mmol) afforded *N*-Boc diester (**m**= 4.07 g, **yield**= 79%) as a colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1.41 (s, 9H, CH_3), 2.79 (dd, J = 4.9, 17.0 Hz, 1H, CH_2), 2.98 (dd, J = 4.1, 17.0 Hz, 1H, CH_2), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 4.53-4.57 (m, 1H, CHN), 4.62-4.64 (m, 2H, OCH_2), 5.14 (d, J = 8.3 Hz, 1H, NHBoc), 5.20-5.31 (m, 1H, CH_2 =), 5.79-5.92 (m, 1H, CH =)

(*S*)-2-[(*tert*-Butyloxycarbonyl)amino]-1-benzyl-4-methyl succinate **144b**¹¹⁴

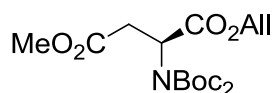


Under the above conditions, compound **143** (4.22 g, 16.90 mmol), K_2CO_3 (3.50 g, 25.35 mmol) and benzyl bromide (4.41 mL, 37.18 mmol) afforded *N*-Boc diester (**m**= 5.20 g, **yield**= 91%) as a colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1.45 (s, 9H, CH_3), 2.83 (dd, J = 4.8, 17.1 Hz, 1H, CH_2), 3.00 (dd, J = 4.4, 17.1 Hz, 1H, CH_2), 3.64 (s, 3H, OCH_3), 4.62-4.65 (m, 1H, CHN), 5.15-5.31 (m, 2H, OCH_2), 5.50 (d, J = 8.1 Hz, 1H, NHBoc), 7.28-7.36 (m, 5H, CH_{arom})

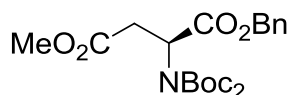
General procedure for the preparation of *N,N*-diBoc diesters 145

To a solution of the diester **144** (1 eq) in 80 mL of acetonitrile were added successively DMAP (0.3 eq) and Boc_2O (1.2 eq). After stirring overnight at room temperature, the solvent was evaporated, and the residue was purified by chromatography with a mixture of petroleum ether/ ethyl acetate (4:1) to afford the *N,N*-diBoc diester.

(S)-2-[Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino]-1-allyl-4-methyl succinate 145a⁸⁵

Under the above conditions, diester **144a** (4.9 g, 16.9 mmol), DMAP (0.6 g, 5.2 mmol) and Boc₂O (4.3 g, 20 mmol) afforded *N,N*-diBoc diester (**m**= 5.76 g, **yield**= 88%) as a **colorless oil**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.47 (s, 18H, CH₃), 2.71 (dd, J= 8.5, 16.4 Hz, 1H, CH₂), 3.23 (dd, J= 7.1, 16.4 Hz, 1H, CH₂), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 4.58-4.61 (m, 2H, OCH₂), 5.15-5.23 (m, 2H, CH₂=), 5.47 (t, J=6.1 Hz, 1H, CHN), 5.79-5.90 (m, 1H, CH=)

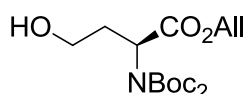
(S)-2-[Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino]-1-benzyl-4-methyl succinate 145b¹¹⁴

Under the above conditions, diester **144b** (5.46 g, 16.18 mmol), DMAP (0.63 g, 5.16 mmol) and Boc₂O (4.23 g, 19.41 mmol) afforded *N,N*-diBoc diester (**m**= 6.2 g, **yield**= 88 %) as a **colorless oil**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.47 (s, 18H, CH₃), 2.76 (dd, J= 7.2, 16.3 Hz, 1H, CH₂), 3.28 (dd, J= 7.0, 16.3 Hz, 1H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 5.11-5.31 (m, 2H, OCH₂), 5.51 (t, J= 6.6 Hz, 1H, CHN), 7.32-7.39 (m, 5H, CH_{arom})

General procedure for the preparation of *N,N*-diBoc Alcohols 146

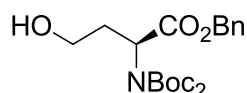
To a solution of diester **145** (1 eq) in 100 mL of distilled diethyl ether was introduced DIBAL (1.6 eq) under argon at -78°C. The mixture was stirred 1 hour at -78 °C and hydrolyzed with 17 mL of water at 0°C. After 5 minutes, the mixture was filtered on celite and washed with 3*25 mL of diethyl ether. Without further purification, the crude product was dissolved in 100 mL of a mixture THF/H₂O (4:1) and NaBH₄ (2 eq) was added. After 30 minutes of stirring at 0°C, the aqueous layer was extracted with 3*75 mL of ethyl acetate. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated. The crude product was purified by chromatography with ethyl acetate/ petroleum ether (1:4, then 3:7, and finally 1:1) as eluent.

(S)-2-[Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino]allyl-4-hydroxybutanoate 146a⁸⁵

Under the above conditions, diester **145a** (2.00 g, 5.20 mmol), DIBAL (8.20 mL, 8.40 mmol), water (10 mL), and NaBH₄ (0.23 g, 5.90 mmol) afforded *N,N*-DiBoc alcohol (**m**= 1.32 g, yield= 71%) as colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.47 (s, 18H, CH₃), 1.97-2.07 (m, 1H, CH₂), 2.36-2.44 (m, 1H, CH₂), 3.54-3.61 (m, 1H, CH₂OH), 3.68-3.73 (m, 1H, CH₂OH), 4.56-5.02 (m, 2H, OCH₂), 4.99 (dd, J= 4.7, 9.8 Hz, 1H, CHN), 5.23-5.19 (m, 2H, CH₂=), 5.81-5.92 (m, 1H, CH=)

(S)-2-[Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino]benzyl-4-hydroxybutanoate 146b¹¹⁴



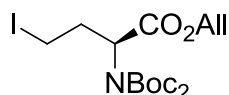
Under the above conditions, diester **145b** (6.26 g, 14.43 mmol), DIBAL (22.50 mL, 22.90 mmol), water (17 mL), and NaBH₄ (5.40 g, 13.26 mmol) afforded *N,N*-DiBoc alcohol (**m**= 4.0 g, yield= 68%) as colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.47 (s, 18H, CH₃), 2.03-2.11 (m, 1H, CH₂), 2.41-2.50 (m, 1H, CH₂), 3.62-3.65 (m, 1H, CH₂OH), 3.67-3.75 (m, 1H, CH₂OH), 5.05 (dd, J= 4.8, 9.8 Hz, 1H, CHN), 5.18 (s, 2H, OCH₂), 7.35-7.39 (m, 5H, CH_{arom})

General procedure for the preparation of *N,N*-diBoc iodo aminoesters 147

In a first flask containing a solution of alcohol **146** (1 eq) in 50 mL of dry THF was added imidazole (2.4 eq). In a second flask containing triphenylphosphine (1.8 eq) in 35 mL of dry THF was added iodine (1.8 eq). The first solution was then added, and the resulting mixture was stirred for 2 hours at room temperature. The reaction mixture was then hydrolyzed with 150 mL of 20% aqueous NaCl. The aqueous layer was extracted by 3*50 mL of ethyl acetate. After drying over MgSO₄, filtration and evaporation, the crude product was purified by chromatography using a mixture of ethyl acetate/petroleum ether (1:9) as eluent to afford the iodo amino ester.

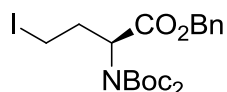
(S)-2-[Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino]allyl-4-iodobutanoate 147a⁸⁵



Under the above conditions, diester **146a** (1.33 g, 3.70 mmol), imidazole (0.60 g, 8.80 mmol), triphenylphosphine (1.52 g, 5.80 mmol), and iodine (1.55 g, 6.10 mmol) afforded *N,N*-DiBoc iodo amino allyl (**m**= 1.5 g, yield= 84%) as colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.48 (s, 18H, CH₃), 2.31-2.43 (m, 1H, CH₂), 2.60-2.72 (m, 1H, CH₂), 3.11-3.30 (m, 2H, CH₂I), 4.56-4.59 (m, 2H, OCH₂), 5.16-5.31 (m, J= 6.0, 8.4 Hz, 1H, CHN), 5.16-5.31 (m, 2H, CH₂=), 5.84-5.97 (m, 1H, CH=)

(S)-2-[Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino]benzyl-4-iodobutanoate 147b¹¹⁴



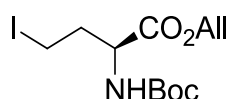
Under the above conditions, diester **146b** (2.44g, 5.96 mmol), imidazole (0.98 g, 14.30 mmol), triphenylphosphine (2.8 g, 10.72 mmol), and iodine (2.9 g, 11.32 mmol) afforded *N,N*-DiBoc iodo amino benzyl (**m**= 2.2 g, **Yield**= 73%) as **colorless oil**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.47 (s, 18H, CH₃), 2.37-2.50 (m, 1H, CH₂), 2.67-2.79 (m, 1H, CH₂), 3.16-3.35 (m, 2H, CH₂I), 5.05 (dd, J= 5.4, 8.4 Hz, 1H, CHN), 5.18 (s, 2H, OCH₂), 7.29-7.34 (m, 5H, CH_{arom})

General procedure for the preparation of *N*-Boc iodo aminoesters 105

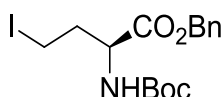
To the solution of **147** (1 eq) in 40 mL of acetonitrile were added CeCl₃·7H₂O (1 eq) and NaI (1 eq). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and hydrolyzed with 20 mL of water. The aqueous layer was extracted with 3*20 mL of ethyl acetate and the organic layer was dried over MgSO₄. After evaporation, the crude product was purified by chromatography using a mixture of ethyl acetate/petroleum ether (1:4) as eluent.

(S)-[[(tert-Butyloxycarbonyl)amino]allyl-4-iodobutanoate 105a⁸⁵



Under the above conditions, **147a** (1.60 g, 3.40 mmol), CeCl₃·7H₂O (1.30 g, 3.40 mmol) and NaI (0.50 g, 3.40 mmol) afforded iodo amino allyl (**m**= 0.9 g, **yield**= 75%) as a **pale yellow oil**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.45 (s, 9H, CH₃), 2.04-2.23 (m, 1H, CH₂), 2.39-2.47 (m, 1H, CH₂), 3.13-3.18 (m, 2H, CH₂I), 4.09-4.11 (m, 1H, CHN), 4.68 (d, J= 5.8 Hz, 2H, OCH₂), 4.98-5.05 (bs, 1H, NHboc), 5.26-5.37 (m, 2H, CH₂=), 5.85-5.98 (m, 1H, CH=)

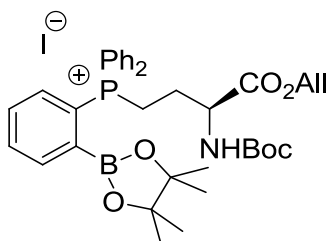
(S)-[[(tert-Butyloxycarbonyl)amino]benzyl-4-iodobutanoate 105b^{113a}

Under the above conditions, **147b** (4.50 g, 8.60 mmol), CeCl₃·7H₂O (3.20 g, 8.60 mmol) and NaI (1.30 g, 8.60 mmol) afforded iodo amino benzyl (**m**= 2.70 g, **yield**= 73%) as a **pale yellow oil**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.45 (s, 9H, CH₃), 2.19-2.24 (m, 1H, CH₂), 2.40-2.45 (m, 1H, CH₂), 3.12-3.18 (m, 2H, CH₂I), 4.39 (bs, 1H, CHN), 5.05 (bs, 1H, NHBoc), 5.21 (s, 2H, OCH₂), 7.29-7.34 (m, 5H, CH_{arom})

General procedure for the preparation of o-boronato phosphonium aminoesters 148

Under Ar atmosphere, to a solution of o-boronato phenyl phosphine **125** (1.7 eq) in 2 mL of dry toluene was added iodo amino ester **105** (1 eq). After 6 hours of stirring at 76°C, the solvent was evaporated and then, the residue was purified by column chromatography (DCM/Acetone 3:1) to afford pure phosphonium derivatives **148**.

(S)-(4-Allyloxy)-3-[[[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-oxobutyl]diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-di-oxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium iodide 148a¹¹⁰

Under the above conditions, o-boronato phenyl phosphine **125** (0.28 g, 0.72 mmol) and allyl iodo amino ester **105a** (0.16 g, 0.42 mmol) afforded phosphonium salt (**m**= 0.28 g, **yield**= 88%) as a **white solid**.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.99 (s, 6H, CH_{3-pin}), 1.02 (s, 6H, CH_{3-pin}), 1.41 (s, 9H, CH_{3-boc}), 2.15-2.19 (m, 1H, CH₂), 2.34-2.38 (m, 1H, CH₂), 3.78-3.81 (m, 1H, P⁺CH₂), 4.04-4.08 (m, 1H, P⁺CH₂), 4.55-4.62 (m, 3H, CHN+OCH₂), 5.17-5.30 (m, 2H, CH₂=), 5.80-5.94 (m, 1H, CH=), 6.42 (d, J= 5 Hz, 1H, NHBoc), 7.30-7.35 (m, 1H, CH_{arom}), 7.63-7.79 (m, 12H, CH_{arom}), 8.22-8.24 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +27.95

¹¹B NMR (96 MHz, CDCl₃): No signal observed

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 21.80 (d, J= 53.1 Hz, P⁺CH₂), 24.33 (CH_{3-pin}), 24.53 (CH_{3-pin}), 25.66 (CH₂), 28.32 (CH_{3-Boc}), 53.60 (d, J= 17.7 Hz, CHN), 66.21 (OCH₂), 79.91 (C_{q-Boc}), 85.52 (C_{q-pin}), 118.48 (CH₂=), 121.20 (d, J= 85.4 Hz, P⁺C_q), 121.48 (d, J= 88.5 Hz, P⁺C_q), 122.17 (d,

$J = 82.3$ Hz, P^+C_q), 130.26 (d, $J = 3.6$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 130.42 (d, $J = 3.4$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 131.77 (CH=), 132.30 (d, $J = 13.0$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 133.04 (d, $J = 6.2$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 133.15 (d, $J = 6.2$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 133.96 (d, $J = 2.3$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 134.37 (d, $J = 2.9$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 134.44 (d, $J = 2.9$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 136.70 (d, $J = 11.9$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 139.23 (d, $J = 13.6$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 155.85 (CO_{Boc}), 170.72 (d, $J = 1.4$ Hz, CO_{allyl}), 1 C_q not observed

HRMS calculated for $C_{36}H_{46}BNO_6P$ $[M-I]^+$: 630.31566 found 630.31494

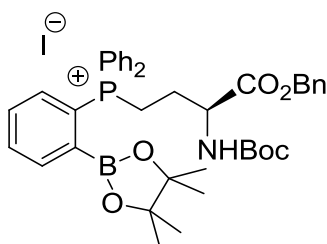
mp: 90°C ; $[\alpha]_D$: -16.70 ($c = 0.3$, $CHCl_3$); **Rf**: 0.53 (DCM/Acetone 3:1); **ee** > 98%*

FT-IR (cm^{-1}): 2980, 2461, 2192, 1704, 1506, 1485, 1439, 1265, 1211, 1161, 1111, 1052, 993, 962, 911, 853, 786, 726, 690

Elemental Analysis calculated for $C_{36}H_{46}BNO_6PI$ (757,44): C 57.08, H 6.12, N 1.82 found C 56.79, H 6.44, N 1.94

* By ^{31}P NMR enantiomeric of the phosphonium salt in the presence of (Λ ,*R*)-BINPHAT tetrabutylammonium salt

(S)- (4-Benzyloxy)-3-[[[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-oxobutyl]diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium iodide 148b¹¹⁰



Under the above condition, *o*-boronato phenyl phosphine **125** (0.32 g, 0.81 mmol) and benzyl iodo amino ester **105b** (0.21 g, 0.50 mmol) afforded phosphonium salt (**m** = 0.32g, **Yield** = 80%) as a **white solid**.

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 0.99 (s, 6H, $CH_{3\text{-pin}}$), 1.04 (s, 6H, $CH_{3\text{-pin}}$), 1.36 (s, 9H, $CH_{3\text{-Boc}}$), 2.17-2.27 (m, 1H, CH_2), 2.40-2.50 (m, 1H, CH_2), 3.75-3.86 (m, 1H, P^+CH_2), 4.08-4.19 (m, 1H, P^+CH_2), 4.56-4.63 (m, 1H, CHN), 5.15-5.18 (m, 2H, OCH_2), 6.52-6.54 (m, 1H, NH_{Boc}), 7.29-7.37 (m, 5H, CH_{arom}), 7.63-7.81 (m, 13H, CH_{arom}), 8.23-8.25 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, $CDCl_3$): δ 27.93

^{11}B NMR (160 MHz, $CDCl_3$): No signal observed

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 21.84 (d, $J = 53.6$ Hz, P^+CH_2), 24.34 ($CH_{3\text{-pin}}$), 24.57 ($CH_{3\text{-pin}}$), 25.77 (d, $J = 1.8$ Hz, CH_2), 28.30 ($CH_{3\text{-Boc}}$), 53.67 (d, $J = 18.7$ Hz, CHN), 67.87 (OCH_2), 79.94 ($C_{q\text{-Boc}}$), 85.53 ($C_{q\text{-pin}}$), 121.11 (d, $J = 87.7$ Hz, P^+C_q), 121.44 (d, $J = 86.5$ Hz, P^+C_q), 122.17 (d, $J = 82.9$ Hz, P^+C_q), 128.17 ($CH_{\text{arom-Bn}}$), 128.39 ($CH_{\text{arom-Bn}}$), 128.43 ($CH_{\text{arom-Bn}}$), 130.33 (d, $J = 3.7$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 130.43 (d, $J = 3.7$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 132.34 (d, $J = 13.1$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 133.08 (d, $J = 10.6$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 133.16 (d, $J = 10.6$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 133.98 (d, $J = 3.2$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 134.41 (d, $J = 2.7$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 134.48 (d, $J = 3.1$ Hz, $CH_{\text{arom-Ph}}$), 135.45 ($C_{q\text{-Bn}}$), 136.74 (d, $J = 12.4$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 139.26 (d, $J = 13.5$ Hz, $CH_{\text{arom-PhB}}$), 155.83 (CO), 170.86 (CO), 1 C_q not observed

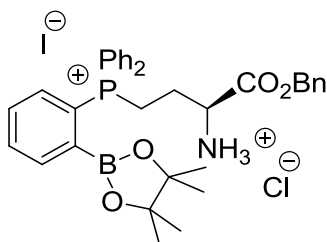
HRMS calculated for $C_{40}H_{48}BNO_6P$ $[M-I]^+$: 680.33039 found 680.33137

mp: 97°C; **[α]_D:** -10.00 (c=0.1, CHCl₃); **R_f:** 0.54 (DCM/Acetone 3:1); **ee**>98%*

FT-IR (cm⁻¹): 2977, 1702, 1605, 1500, 1348, 1340, 1254, 1212, 1161, 1110, 1052, 997, 962, 850, 732, 692

* By ³¹P NMR analysis of the phosphonium salt in the presence of (Λ,R)-BINPHAT tetrabutylammonium salt

(S)-[3-Ammonium-4-(benzyloxy)-4-oxobutyl]diphenyl[2-(4,4,5,5-tetra methyl-1,3,2 -dioxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium chloride iodide 151b¹¹⁰



O-boronato phenyl phosphonium amino ester **148b** (0.33 g, 0.4 mmol) was dissolved in 2.5 mL of acetone, and then, 2 mL of degased HCl 6M was added. After 2 hours of stirring at room temperature, the mixture was extracted with 2*10 mL of degased dichloromethane. The organic phase was dried with MgSO₄, and evaporated. The compound was obtained as a **white solid** with **78% yield (m= 0.24 g)**.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 0.90-0.92 (2s, 12H, CH_{3-pin}), 2.29-2.32 (m, 1H, CH₂), 2.45-2.50 (m, 1H, CH₂), 3.96-4.03 (m, 2H, P⁺CH₂), 4.36-4.39 (m, 1H, CHN), 5.11-5.21 (m, 2H, OCH₂), 7.28-7.91 (m, 18H, CH_{arom}), 8.18-8.20 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CD₃CN): δ +26.55

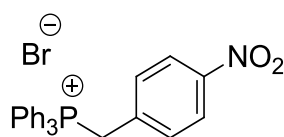
¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ 30.05

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 22.31 (d, J= 53.2 Hz, P⁺CH₂), 24.27 (CH_{3-pin}), 24.43 (CH_{3-pin}), 25.04 (CH₂), 53.91 (d, J= 19.2 Hz, CHN), 68.61 (OCH₂), 86.01 (C_{q-pin}), 120.99 (d, J= 86.3 Hz, P⁺C_q), 121.71 (d, J= 89.2 Hz, P⁺C_q), 121.79 (d, J= 87.1 Hz, P⁺C_q), 128.89 (CH_{arom-Bn}), 129.14 (CH_{arom-Bn}), 129.20 (CH_{arom-Bn}), 130.85 (d, J= 11.4 Hz, CH_{arom-Ph}), 133.08 (d, J= 13.0 Hz, CH_{arom-PhB}), 133.66 (d, J= 9.8 Hz, CH_{arom-Ph}), 134.10 (d, J= 9.8 Hz, CH_{arom-Ph}), 134.85 (d, J= 4.9 Hz, CH_{arom-PhB}), 135.18 (d, J= 2.8 Hz, CH_{arom-Ph}), 135.48 (C_{q-Bn}), 137.72 (d, J= 12.4 Hz, CH_{arom-PhB}), 139.34 (d, J= 14.5 Hz, CH_{arom-PhB}), 168.56 (CO), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₅H₄₀BNO₄P [M-Cl-H-I]⁺: 580.27756 found 580.27887

mp: 129°C; **[α]_D:** + 2.25 (c= 0.4, CHCl₃)

FT-IR (cm⁻¹): 2974, 2869, 2817, 2608, 1984, 1746, 1705, 1584, 1482, 1437, 1340, 1259, 1195, 1139, 1109, 1051, 995, 961, 852, 824, 731, 691

(4-Nitrobenzyl)triphenylphosphonium bromide 156¹¹⁹

1-(bromomethyl)-4-nitrobenzene **155** (1.59 g, 7.60 mmol) was added to a solution of triphenylphosphine **121** (1.00 g, 3.80 mmol) in dry THF (7 mL). The mixture was stirred overnight at 100°C and then, the solvent was evaporated. The residue was diluted in dichloromethane and then, precipitated with diethyl ether to afford a **white powder** (**m**= **1.50 g**, **yield**= **96%**).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.94 (d, J= 15.6 Hz, 2H, P⁺CH₂), 7.45-7.48 (m, 2H, CH_{arom}), 7.61-7.67 (m, 6H, CH_{arom}), 7.76-7.98 (m, 11H, CH_{arom})

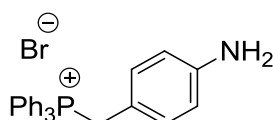
³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +24.02

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 29.81 (d, J= 46.8 Hz, P⁺CH₂), 117.35 (d, J= 86.4 Hz, P⁺C_q), 123.22 (d, J= 3.4 Hz, CH_{arom}), 130.16 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom}), 132.91 (d, J= 5.8 Hz, CH_{arom}), 134.53 (d, J= 10.0 Hz, CH_{arom}), 135.07 (d, J= 2.9 Hz, CH_{arom}), 135.75 (d, J= 8.7 Hz, C_q), 147.42 (d, J= 5.3 Hz, C_q)

HRMS calculated for C₂₅H₂₁O₂NP [M-Br]⁺: 398.13044 found 398.12897

mp: 265°C

FT-IR (cm⁻¹): 2981, 2900, 1518, 1436, 1347, 1106, 872, 748, 717, 687, 495

(4-Aminobenzyl)triphenylphosphonium bromide 157

In a reactor thoroughly purged and under argon, 10% Pd/C catalyst (0.01 g, 5% mol) was introduced followed by **156** (0.15 g, 0.37 mmol) and 6 mL of methanol. The reactor was purged with argon prior to introduce hydrogen (5 bar). The mixture was stirred at room temperature during 15 hours, and, then filtered. After evaporation of the solvent, the compound was isolated as a **yellow powder** (**m**= **0.13 g**, **yield**= **95%**).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-D₆): δ 4.90 (d, J= 14.4 Hz, 2H, P⁺CH₂), 6.37 (d, J= 8.1 Hz, 2H, CH_{arom}), 6.59 (dd, J= 2.4, 8.1 Hz, 2H, CH_{arom}), 7.60-7.76 (m, 12H, CH_{arom}), 7.86-7.89 (m, 3H, CH_{arom}), NH₂ not observed

³¹P NMR (121 MHz, DMSO-D₆): δ +21.14

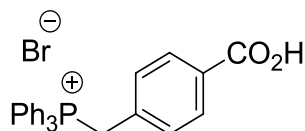
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-D₆): δ 27.92 (d, J= 46.0 Hz, P⁺CH₂), 112.61 (d, J= 9.1 Hz, C_q), 113.78 (d, J= 3.0 Hz, CH_{arom}), 118.20 (d, J= 84.5 Hz, P⁺C_q), 129.95 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom}), 131.43 (d, J= 5.3 Hz, CH_{arom}), 134.01 (d, J= 9.1 Hz, CH_{arom}), 134.86 (d, J= 2.3 Hz, CH_{arom}), 148.72 (d, J= 3.0 Hz, C_q)

HRMS calculated for C₂₅H₂₃NP [M-Br]⁺: 368.15626 founded 368.15685

mp: 254°C

FT-IR (cm⁻¹): 3409, 2800, 1619, 1519, 1435, 1347, 1106, 840, 744, 688

***p*-(Carboxybenzyl)triphenylphosphonium bromide 159¹⁴⁸**



4-(bromomethyl) benzoic acid **158** (0.30 g, 1.40 mmol) was added to a solution of triphenylphosphine **121** (0.41 g, 1.56 mmol) in degazed toluene (5 mL). After 4 hours of stirring at 70°C, the solvent was evaporated. The residue was concentrated in dichloromethane and then, precipitated with diethyl ether to afford a **white powder** (m= 0.53 g, yield= 79%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-D₆): δ 5.29 (d, J= 16.0 Hz, 2H, P⁺CH₂), 7.09 (dd, J= 2.0, 8.0 Hz, 2H, CH_{arom}), 7.66-7.78 (m, 14H, CH_{arom}), 7.89-7.94 (m, 3H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, DMSO-D₆): δ +23.28

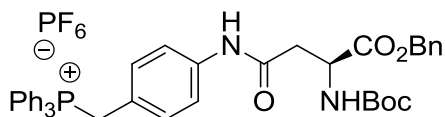
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-D₆): δ 28.13 (d, J= 46.8 Hz, P⁺CH₂), 117.53 (d, J= 85.7 Hz, P⁺C_q), 129.55 (d, J= 3.0 Hz, CH_{arom}), 130.14 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom}), 130.60 (d, J= 3.5 Hz, C_q), 131.00 (d, J= 5.4 Hz, CH_{arom}), 133.06 (d, J= 9.0 Hz, C_q), 133.98 (d, J= 9.8 Hz, CH_{arom}), 135.17 (d, J= 2.8 Hz, CH_{arom}), 166.68 (d, J= 1.4 Hz, CO)

HRMS calculated for C₂₆H₂₁O₂PNa [M-Br-H+Na]⁺: 419.11714 found 419.11706

mp: 265°C

FT-IR (cm⁻¹): 2859, 2790, 1706, 1610, 1483, 1433, 1368, 1215, 1175, 1107, 996, 840, 784, 760, 715, 692

***(S)*- {4 -[4-(Benzyloxy) -3- [(*tert*-butyloxycarbonyl)amino] -4- oxobutanamido]benzyl} triphenyl phosphonium hexafluorophosphate 161**



Under Ar atmosphere, to phosphonium benzyl amine derivative **157** (0.20 g, 0.55 mmol) were added Boc-L-Asp-Bzn **160** (0.21 g, 0.65 mmol) and HBTU (0.41 g, 1.10 mmol). After drying DMF and DIPEA on fine molecular sieves, 1 mL of DMF and 0.5 mL of DIPEA were added. After stirring at room temperature during 4 hours, the mixture was hydrolyzed with 5 mL of water and extracted with AcOEt. Then, the solvent was evaporated and dichloromethane was added and the reaction mixture was washed with water. The organic

¹⁴⁸ Zhu, X.; Anderson, V. E.; Sayre, L. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2009**, 23, 2113.

layer was dried with MgSO_4 and the solvent was evaporated. The residue was concentrated in DCM, and then precipitated by adding ether to afford an **orange solid** ($m = 0.29 \text{ g}$, **yield = 78%**).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.40 (s, 9H, CH_3), 2.88 (dd, $J = 4.7, 16.4 \text{ Hz}$, 1H, CH_2), 3.09 (dd, $J = 5.1, 16.4 \text{ Hz}$, 1H, CH_2), 4.42 (d, $J = 13.8 \text{ Hz}$, 2H, P^+CH_2), 4.63 (s, 1H, CHN), 5.15 (s, 2H, OCH_2), 5.71 (d, $J = 9.0 \text{ Hz}$, 1H, NH Boc), 6.66 (d, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2H, CH_{arom}) 7.22-7.30 (m, 6H, CH_{arom}), 7.43-7.50 (m, 6H, CH_{arom}), 7.60-7.65 (m, 6H, CH_{arom}), 7.76-7.77 (m, 3H, CH_{arom}), 8.12 (s, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3): δ +21.81

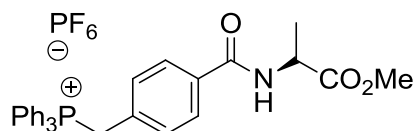
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 28.28 (CH_3), 29.92 (d, $J = 48.2 \text{ Hz}$, P^+CH_2), 38.63 (CH_2), 50.35 (CHN), 67.12 (OCH_2), 79.91 ($\text{C}_{\text{q-Boc}}$), 117.05 (d, $J = 85.6 \text{ Hz}$, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 120.34 (d, $J = 3.6 \text{ Hz}$, CH_{arom}), 121.14 (d, $J = 10.1 \text{ Hz}$, C_{q}), 127.90 (CH_{arom}), 128.16 (CH_{arom}), 128.47 (CH_{arom}), 130.30 (d, $J = 12.6 \text{ Hz}$, CH_{arom}), 131.30 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, CH_{arom}), 133.93 (d, $J = 9.9 \text{ Hz}$, CH_{arom}), 135.31 (d, $J = 2.5 \text{ Hz}$, CH_{arom}), 135.49 (C_{q}), 138.53 (d, $J = 4.4 \text{ Hz}$, C_{q}), 155.73 (CO), 169.08 (CO), 171.62 (CO)

HRMS calculated for $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$ $[\text{M-PF}_6]^+$: 673.28259 found 673.28209

mp: 91°C , $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +1.39 ($c = 0.54$, CHCl_3)

FT-IR (cm^{-1}): 3396, 2976, 1693, 1602, 1516, 1439, 1160, 1111, 830, 743, 688

(S)-4-[(1-Methoxy-1-oxopropan-2-yl)-carbamoyl]benzyl triphenylphosphonium hexafluorophosphates 162



Under Ar atmosphere, to phosphonium benzyl acid **159** (0.10 g, 0.21 mmol) were added L-alanine methyl ester hydrochloride **140** (0.04 g, 0.30 mmol) and HBTU (0.19 g, 0.50 mmol). After drying DMF and DIPEA on fine molecular sieves, 0.5 mL of DMF and 0.26 mL of DIPEA were added. After stirring at room temperature during 4 hours, the mixture was hydrolyzed with 5 mL of water and extracted with AcOEt. Then, the solvent was evaporated and dichloromethane was added and the reaction mixture was washed with water. The organic layer was dried with MgSO_4 and the solvent was evaporated. The residue was concentrated in DCM, and then precipitated by adding ether to afford a **white solid** ($m = 0.11 \text{ g}$, **yield = 86 %**).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.48 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3H, CH_3), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 4.54 (d, $J = 14.7 \text{ Hz}$, 2H, P^+CH_2), 4.60-4.65 (m, 1H, CHN), 6.87 (dd, $J = 2.4, 8.4 \text{ Hz}$, 2H, CH_{arom}), 7.06 (d, $J = 6.9 \text{ Hz}$, 1H, CH_{arom}), 7.27-7.63 (m, 13H, CH_{arom}), 7.73-7.78 (m, 3H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3): δ +22.46

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 17.58 (CH_3), 30.04 (d, $J = 48.8 \text{ Hz}$, P^+CH_2), 48.77 (CHN), 52.40 (OCH_3), 113.77 (d, $J = 86.0 \text{ Hz}$, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 127.74 (d, $J = 3.3 \text{ Hz}$, CH_{arom}), 130.21 (C_{q}), 130.36 (d,

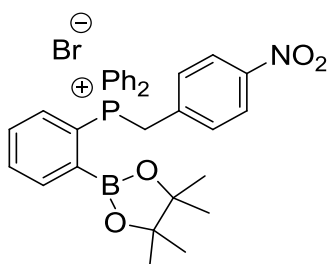
$J = 12.7$ Hz, CH_{arom}), 131.15 (d, $J = 5.3$ Hz, CH_{arom}), 133.91 (d, $J = 9.8$ Hz, CH_{arom}), 133.9 (C_{q}), 135.41 (d, $J = 3.0$ Hz, CH_{arom}), 166.37 (d, $J = 0.9$ Hz, CONH), 173.4 (CO_2Me)

HRMS calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{NO}_3\text{P}$ $[\text{M}-\text{PF}_6]^+$: 482.18796 found 482.18747

mp: 115°C , $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +3.16 ($c = 0.4$, CHCl_3)

FT-IR (cm^{-1}): 3420, 2953, 1737, 1650, 1533, 1500, 1439, 1166, 1111, 827, 749, 718, 688

(4-Nitrobenzyl) diphenyl [2- (4,4,5,5-tetramethyl- 1,3,2-dioxaborolan- 2-yl) phenyl] phosphonium bromide 163



To a solution of *o*-boronato phenyl phosphine **125** (0.24 g, 0.62 mmol) in 3 mL of dry toluene was added of 4-nitrobenzyl bromide **155** (0.28 g, 1.30 mmol). After 40 minutes of stirring at 60°C , the solvent was evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then, precipitated with diethyl ether to afford a **white solid** ($m = 0.32$ g, **yield** = 85%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.00 (s, 12H, CH_3), 5.97 (d, $J = 16.7$ Hz, 2H, P^+CH_2), 7.28-7.85 (m, 15H, CH_{arom}), 7.93-7.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, CH_{arom}), 8.26-8.30 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3): δ +25.21

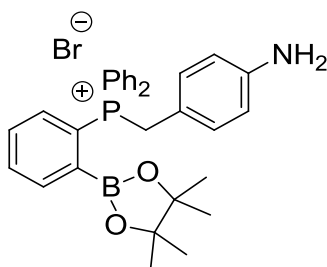
^{11}B NMR (96 MHz, CDCl_3): No signal observed

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 24.48 (CH_3), 31.00 (d, $J = 45.4$ Hz, P^+CH_2), 85.57 ($\text{OC}_{\text{q-pin}}$), 120.05 (d, $J = 86.3$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 121.98 (d, $J = 82.2$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 123.62 (d, $J = 2.6$ Hz, CH_{arom}), 130.15 (d, $J = 12.7$ Hz, CH_{arom}), 132.13 (CH_{arom}), 132.34 (d, $J = 6.0$ Hz, CH_{arom}), 133.94 (d, $J = 9.4$ Hz, CH_{arom}), 134.14 (d, $J = 3.3$ Hz, CH_{arom}), 134.58 (d, $J = 3.0$ Hz, CH_{arom}), 136.82 (d, $J = 8.5$ Hz, C_{q}), 137.18 (d, $J = 11.8$ Hz, CH_{arom}), 139.27 (d, $J = 13.8$ Hz, CH_{arom}), 147.52 (d, $J = 4.0$ Hz, C_{q}), 1 C_{q} not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{BNO}_4\text{P}$ $[\text{M}-\text{Br}]^+$: 524.21620 found 524.21607

mp: 160°C

FT-IR (cm^{-1}): 3382, 2978, 2864, 2785, 1600, 1520, 1484, 1437, 1341, 1269, 1139, 1109, 1053, 853, 750, 718, 691

(4-Aminobenzyl) diphenyl [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium bromide 164

In a reactor thoroughly purged and under argon, 10% Pd/C catalyst (0.02 g, 10% mol) was introduced followed by the nitro *o*-boronato phenyl phosphonium salt **163** (0.20 g, 0.33 mmol) and 6 mL of dichloromethane. The reactor was purged with argon prior to introduce hydrogen (5 bar). The mixture was stirred at room temperature during 15 hours, and then filtered. After evaporation of the solvent, the compound was isolated as a **yellow powder** (**m**= 0.18 g, **yield**= 94%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.05 (s, 12H, CH_{3-pin}), 5.26 (d, J= 14.4 Hz, 2H, P⁺CH₂), 6.60 (d, J= 8.40 Hz, 2H, CH_{arom}), 6.81 (dd, J= 2.5, 8.4 Hz, 2H, CH_{arom}), 7.48-7.52 (m, 1H, CH_{arom}), 7.55-7.82 (m, 12H, CH_{arom}), 8.29-8.32 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ +22.88

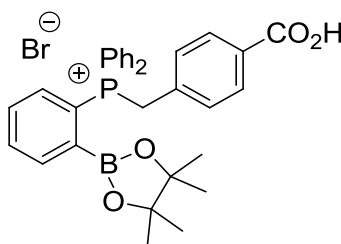
¹¹B NMR (160 MHz, CDCl₃): δ +29.40

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 23.99 (CH_{3-pin}), 31.01 (P⁺CH₂), 84.91 (OC_{q-pin}), 114.97 (d, J= 2.9 Hz, CH_{arom}), 115.39 (d, J= 8.7 Hz, C_q), 119.11 (d, J= 85.2 Hz, P⁺C_q), 122.64 (d, J= 81.3 Hz, P⁺C_q), 129.44 (d, J= 12.6 Hz, CH_{arom}), 131.48 (d, J= 5.8 Hz, CH_{arom}), 131.65 (d, J= 12.6 Hz, CH_{arom}), 133.20 (d, J= 2.4 Hz, CH_{arom}), 133.64 (d, J= 8.9 Hz, CH_{arom}), 133.85 (d, J= 2.7 Hz, CH_{arom}), 136.67 (d, J= 11.7 Hz, CH_{arom}), 138.75 (d, J= 13.3 Hz, CH_{arom}), 146.62 (d, J= 3.0 Hz, C_q), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₁H₃₄BNO₂P [M-Br]⁺: 494.24202 found 494.24208

mp: 122°C

FT-IR (cm⁻¹): 3311, 3193, 2974, 2789, 2560, 2084, 1984, 1733, 1608, 1583, 1515, 1477, 1435, 1372, 1338, 1271, 1211, 1166, 1138, 1109, 1052, 997, 960, 845, 742, 718, 691

(4-Carboxybenzyl)diphenyl[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl] phosphonium bromide 165

4-Bromo-methyl toluic acid **158** (0.06 g, 0.30 mmol) was added to a solution of *o*-boronato phenyl phosphine **125** (0.18 g, 0.5 mmol) in dry toluene (5 mL). After 4 hours of stirring at 70°C, the solvent was evaporated. The residue was diluted in dichloromethane and then, precipitated with diethyl ether to afford a **white powder** (*m*= 0.16 g, *yield*= 90%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.02 (s, 12H, CH₃), 5.62 (d, *J*= 15.9 Hz, 2H, P⁺CH₂), 7.10-7.13 (m, 2H, CH_{arom}), 7.58-7.74 (m, 15H, CH_{arom}), 8.25-8.29 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +24.61

¹¹B NMR (96 MHz, CDCl₃): No signal observed

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 24.48 (CH₃), 31.83 (d, *J*= 45.9 Hz, P⁺CH₂), 85.51 (OC_{q-pin}), 120.24 (d, *J*= 86.1 Hz, P⁺C_q), 122.48 (d, *J*= 81.8 Hz, P⁺C_q), 129.86 (C_q), 130.03 (d, *J*= 12.5 Hz, CH_{arom}), 130.28 (d, *J*= 2.4 Hz, CH_{arom}), 131.07 (d, *J*= 6.0 Hz, CH_{arom}), 132.22 (d, *J*= 12.5 Hz, CH_{arom}), 133.83 (C_q), 133.90 (d, *J*= 3.0 Hz, CH_{arom}), 134.03 (d, *J*= 9.6 Hz, CH_{arom}), 134.42 (d, *J*= 2.4 Hz, CH_{arom}), 137.19 (d, *J*= 12.1 Hz, CH_{arom}), 139.19 (d, *J*= 13.8 Hz, CH_{arom}), 168.04 (CO₂H), 1 C_q not observed

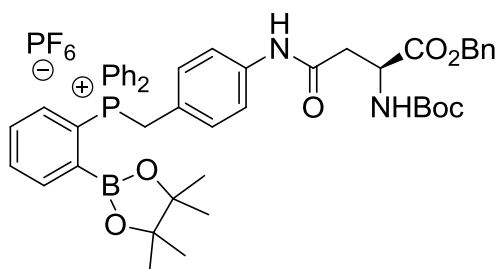
HRMS calculated for C₃₂H₃₂BNO₄PNa [M-Br-H+Na]⁺: 545.20291 found 545.20221

mp: >260°C

FT-IR (cm⁻¹): 2977, 2868, 1710, 1438, 1337, 1219, 1171, 1110, 1052, 827, 750, 717, 690

Elemental analysis calculated for C₃₁H₃₂BNO₄PBr (602): C 63.71, H 5.51 found C 63.39, H 5.81

(S)- {4 -[4- (Benzyloxy) -3-[(*tert*-butoxycarbonyl) amino] -4-oxobutanamido] benzyl} diphenyl [2- (4,4,5,5- tetramethyl- 1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium hexafluorophosphate 166



Under Ar atmosphere, to 4-amine *o*-boronato phenyl phosphonium salt **164** (0.10 g, 0.17 mmol) were added Boc-L-Asp-Bzn **160** (0.08 g, 0.24 mmol) and HBTU (0.15 g, 0.4 mmol). After drying DMF and DIPEA on fine molecular sieves, 0.4 mL of DMF and 0.15 mL of DIPEA were added. After stirring at room temperature during 4 hours, the mixture was hydrolyzed with 5 mL of water and extracted with AcOEt. After solvent evaporation, dichloromethane was added and the reaction mixture was washed with water. The organic layer was dried with MgSO₄ and the solvent was evaporated. The residue was concentrated in DCM, and then precipitated by adding ether to afford a **brown solid** (*m*= 0.1 g, *yield*= 65%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.04 (s, 12H, CH_{3-pin}), 1.41 (s, 9H, CH_{3-Boc}), 2.92 (d, *J*= 14.5 Hz, 1H, CH₂), 3.16 (d, *J*= 14.5 Hz, 1H, CH₂), 4.60-4.63 (m, 1H, CHN), 4.82 (d, *J*= 15.0 Hz, 2H, P⁺CH₂), 5.12-5.19 (m, 2H, OCH₂), 5.74-5.76 (m, 1H, NH), 6.77-6.80 (m, 2H, CH_{arom}),

7.23-7.39 (m, 10H, CH_{arom}), 7.46-7.82 (m, 9H, CH_{arom}), 8.33-8.35 (m, 1H, CH_{arom}), 8.56 (s, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ +23.02

¹¹B NMR (96 MHz, CDCl₃): No signal observed

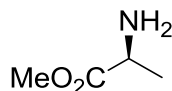
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 24.41 (CH_{3-pin}), 28.30 (CH_{3-boc}), 31.72 (d, J= 47.9 Hz, P⁺CH₂), 38.70 (CH₂), 50.33 (CHN), 67.07 (OCH₂), 79.76 (C_{q-boc}), 85.59 (C_{q-pin}), 119.66 (d, J= 85.4 Hz, P⁺C_q), 120.47 (d, J= 2.0 Hz, CH_{arom}), 122.04 (d, J= 5.9 Hz, C_{q-Bn}), 122.23 (d, J= 81.9 Hz, BP⁺C_q), 127.952 (CH_{arom-Bn}), 128.07 (CH_{arom-Bn}), 128.44 (CH_{arom-Bn}), 130.13 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom}), 131.02 (d, J= 5.8 Hz, CH_{arom}), 132.38 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 133.72 (d, J= 9.3 Hz, CH_{arom}), 134.16 (d, J= 2.9 Hz, CH_{arom-PhB}), 134.82 (d, J= 2.3 Hz, CH_{arom}), 135.59 (C_{q-Bn}), 136.88 (d, J= 11.6 Hz, CH_{arom-PhB}), 138.94 (C_q), 139.71 (d, J= 13.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 155.75 (CO), 169.28 (CO), 171.58 (CO), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₄₇H₅₃BN₂O₇P [M-PF₆]⁺: 799.37103 found 799.36860

mp: 127 °C; [α]_D: +3.00 (c= 0.3, CHCl₃)

FT-IR (cm⁻¹): 2978; 2361; 1706; 1602; 1515; 1439; 1339; 1254; 1161; 1110; 1053; 834; 742; 692

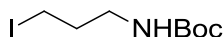
α-Alanine methyl ester **167**¹⁴⁹



A solution of L-serine methyl ester hydrochloride **140** (0.20 g, 1.40 mmol) in DCM (5 mL) was treated with DABCO (0.17 mg, 1.50 mmol) at room temperature for 1 hour. The precipitate obtained was eliminated by filtration, and then the solvent evaporated to afford a colorless solid (m= 0.10 g, yield= 72%).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1.42 (d, J= 7.2 Hz, 3H, CH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 5.31 (bs, 2H, CHN)

Tert-Butyl-(3-iodopropyl)carbamate **169**¹²³



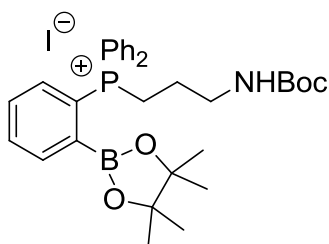
A solution of 3-aminopropan-1-ol **170** (1.5 g, 20 mmol) in dry DCM (25 mL) was treated with Et₃N (2.8 mL, 20 mmol) at room temperature for 30 minutes before a solution of Boc₂O (4.8 g, 22 mmol) in dry CH₂Cl₂ was added slowly. During the dropwise addition of the Boc₂O solution, warming and thickening of the mixture was observed. The resulting colorless mixture was stirred under reflux overnight and quenched with saturated NH₄Cl solution (2*30

¹⁴⁹ Devedjiev, I. T.; Bairyamov, S. G.; Videva, V. S. *Heteroatom Chem.* **2008**, 19, 252

mL). The aqueous layer was re-extracted twice with CH_2Cl_2 (2*20 mL), and the combined organic layers were washed with brine (2*15 mL), dried and evaporated. Colorless oil was pure enough to be used without further purification. I_2 (5.96 g, 23.5 mmol) was added portionwise to a solution of imidazole (1.6 g, 23.5 mmol) and PPh_3 (6.17 g, 23.5 mmol) in CH_2Cl_2 (100 mL). On this was added the *tert*-butyl(3-hydroxypropyl)carbamate obtained previously in CH_2Cl_2 (20 mL). The mixture was stirred at room temperature for 4 hours, filtered over celite and then, the solvent was evaporated. The residual oil was subjected to column chromatography (AcOet/ EP 1:2) to obtained **4.26 g (75% yield)** of *tert*-butyl-(3-iodopropyl)carbamate as a **colorless oil**.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1.45 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Boc}$), 1.99-2.04 (m, 2H, CH_2), 3.18-3.22 (m, 4H, CH_2)

{3- [(*Tert*-butoxycarbonyl) amino] propyl} diphenyl [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl]phosphonium iodide 172



Under Ar atmosphere, to a solution of *o*-boronato phenyl phosphine **125** (0.27 g, 0.7 mmol) in 2 mL of dry acetonitrile was added *tert*-butyl(3-iodopropyl)carbamate **169** (0.35 g, 1.2 mmol). After stirring overnight at 60°C, the solvent was evaporated, and then the residue was purified by column chromatography (DCM/Acetone 2:1) to afford a **yellow solid (m= 0.36 g, yield= 77%)**.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 1.02 (s, 12H, $\text{CH}_3\text{-pin}$), 1.42 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Boc}$), 1.84-1.86 (m, 2H, CH_2), 3.45-3.49 (m, 2H, CH_2), 3.87-3.93 (m, 2H, CH_2), 6.19 (bs, 1H, NH), 7.30-7.35 (m, 1H, CH_{arom}), 7.63-7.67 (m, 5H, CH_{arom}), 7.72-7.81 (m, 7H, CH_{arom}), 8.22-8.23 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (202 MHz, CDCl_3): δ +27.83

^{11}B NMR (160 MHz, CDCl_3): δ +29.79

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 22.60 (d, J = 50.6 Hz, CH_2P^+), 24.48 ($\text{CH}_3\text{-pin}$), 24.86 (d, J = 3.8 Hz, CH_2), 28.47 ($\text{CH}_3\text{-Boc}$), 40.11 (d, J = 18.9 Hz, CH_2), 78.96 ($\text{C}_{\text{q-Boc}}$), 85.51 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 121.66 (d, J = 86.8 Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 122.45 (d, J = 82.1 Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 130.32 (d, J = 12.7 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 132.21 (d, J = 12.7 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 133.08 (d, J = 9.5 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.83 (d, J = 3.2 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 134.31 (d, J = 2.8 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 136.69 (d, J = 12.0 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 139.13 (d, J = 13.4 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 156.51 (C_{q}), 1 C_{q} not observed

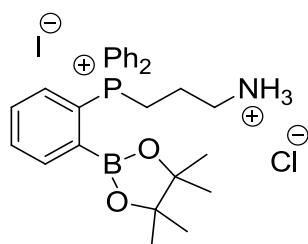
HRMS calculated for $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{BNO}_4\text{P}$ [M-I] $^+$: 546.29380 found 546.229447

mp: 117°C; **R_f** = 0.66 (DCM/Acetone 1:1)

FT-IR (cm^{-1}): 3283, 3052, 2976, 2930, 2870, 2017, 1699, 1584, 1506, 1436, 1340, 1249, 1213, 1165, 1139, 1110, 1052, 996, 961, 853, 824, 726, 690

Elemental analysis calculated for $C_{32}H_{42}BINO_4P$ (673.37): C 57.08, H 6.29, N 2.08 found C 56.49, H 6.02, N 1.95

(2-Ammonium-chloro)propyl diphenyl [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl] phosphonium iodide 173



O-boronato phosphonium propyl NHBoc **172** (0.60 g, 0.9 mmol) was dissolved in 2 mL of acetone, and then, 2 mL of HCl 6M was added. After 1.5 hours of stirring at room temperature, the mixture was extracted with 2*10 mL of dichloromethane. The organic phase was dried with $MgSO_4$, and evaporated. The compound was obtained as a **yellow solid** with **84 % yield (0.46 g)**.

1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ 1.01 (s, 12H, CH_{3-pin}), 2.15-2.18 (m, 2H, CH_2), 3.16-3.19 (m, 2H, CH_2N), 3.75-3.81 (m, 2H, CH_2P), 7.48-7.53 (m, 1H, CH_{arom}), 7.68-8.05 (m, 15H, $CH_{arom} + NH_3^+$), 8.23-8.25 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (202 MHz, CD_3CN): δ +26.76

^{11}B NMR (160 MHz, CD_3CN): δ +29.92

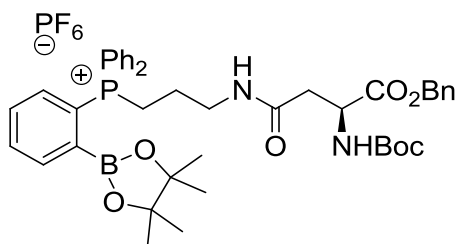
^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ 22.10 (CH_2), 22.42 (d, $J = 52.0$ Hz, CH_2P^+), 24.56 (CH_{3-pin}), 40.72 (d, $J = 21.5$ Hz, CH_2N^+), 86.17 (C_{q-pin}), 121.84 (d, $J = 88.0$ Hz, P^+C_q), 122.19 (d, $J = 83.2$ Hz, P^+C_q), 131.02 (d, $J = 12.5$ Hz, $CH_{arom-Ph}$), 133.17 (d, $J = 12.8$ Hz, $CH_{arom-PhB}$), 133.99 (d, $J = 9.9$ Hz, $CH_{arom-Ph}$), 134.92 (d, $J = 3.1$ Hz, $CH_{arom-PhB}$), 135.29 (d, $J = 3.2$ Hz, $CH_{arom-Ph}$), 137.89 (d, $J = 12.6$ Hz, $CH_{arom-PhB}$), 139.56 (d, $J = 13.5$ Hz, $CH_{arom-PhB}$), *1 C_q not observed*

HRMS calculated for $C_{27}H_{34}BNO_2P$ [$M-I-H-Cl$] $^+$: 446.24196 found 446.24086

mp: 116°C

FT-IR (cm^{-1}): 3323, 3275, 3054, 2976, 2931, 2872, 2017, 1699, 1584, 1507, 1483, 1437, 1340, 1249, 1165, 1139, 1109, 1052, 996, 961, 853, 824, 725, 690

(S)- {3- [4- (Benzyloxy) -3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino] -4-oxobutanamido] propyl} [2-(4,4,5,5-tetra methyl -1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] diphenyl phosphonium hexa fluorophosphates 174



Under Ar atmosphere, to *o*-boronato phosphonium/ ammonium **173** (0.12 g, 0.2 mmol) were added Boc-L-Asp-Bzn **160** (0.10 g, 0.3 mmol) and HBTU (0.19 g, 0.5 mmol). After drying DMF and DIPEA on fine molecular sieves, 0.6 mL of DMF and 0.3 mL of DIPEA were added. After stirring at room temperature during 4 hours, the mixture was hydrolyzed with 5mL of water and extracted with AcOEt. Then, the solvent was evaporated and dichloromethane was added and the reaction mixture was washed with water. The organic layer was dried with MgSO₄ and the solvent was evaporated. The residue was purified by column chromatography (DCM/Acetone 2:1) to afford a **white solid (m= 0.08 g, yield= 45%)**.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 1.01 (s, 12H, CH₃-pin), 1.40 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.74-1.80 (m, 2H, CH₂-alkyl), 2.68-2.69 (m, 2H, CH₂-amino), 3.29-3.43 (m, 4H, CH₂P⁺, CH₂N), 4.52-4.55 (m, 1H, CHN), 5.08 (s, 2H, OCH₂), 5.94-5.96 (bs, 1H, NH), 6.63-6.65 (m, 1H, CH_{arom}), 7.33-7.40 (m, 5H, CH_{arom}), 7.63-7.75 (m, 9H, CH_{arom}), 7.81-7.90 (m, 3H, CH_{arom}), 8.22-8.25 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CD₃CN): δ +26.94

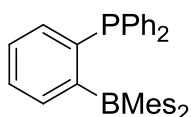
¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ +30.14

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 22.09 (d, J= 52.1 Hz, P⁺CH₂), 24.32 (CH₃-pin), 24.54 (d, J= 4.3 Hz, CH₂-alkyl), 28.14 (CH₃-Boc), 37.78 (CH₂-amino), 39.76 (d, J= 20.5 Hz, CH₂N), 51.28 (CHN), 67.18 (OCH₂), 79.84 (C_q-Boc), 85.98 (C_q-pin), 121.89 (d, J= 87.1 Hz, P⁺C_q), 122.63 (d, J= 82.8 Hz, P⁺C_q), 128.40 (CH_{arom}-Bn), 128.74 (CH_{arom}-Bn), 129.08 (CH_{arom}-Bn), 130.82 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom}-Ph), 132.89 (d, J= 12.8 Hz, CH_{arom}-PhB), 133.63 (d, J= 10.0 Hz, CH_{arom}-Ph), 134.69 (d, J= 3.2 Hz, CH_{arom}-PhB), 135.13 (d, J= 3.0 Hz, CH_{arom}-Ph), 136.63 (C_q-Bn), 137.47 (d, J= 12.7 Hz, CH_{arom}-PhB), 139.37 (d, J= 14.1 Hz, CH_{arom}-PhB), 170.88 (CO), 172.23 (CO), 1 C_q + 1 CO not observed

HRMS calculated for C₄₃H₅₃BN₂O₇P [M-PF₆]⁺: 751.36854 found 751.36790

mp: 89 °C; **[α]_D:** -3.02 (c= 0.3, CHCl₃); **R_f** = 0.60 (DCM/Acetone 3:1)

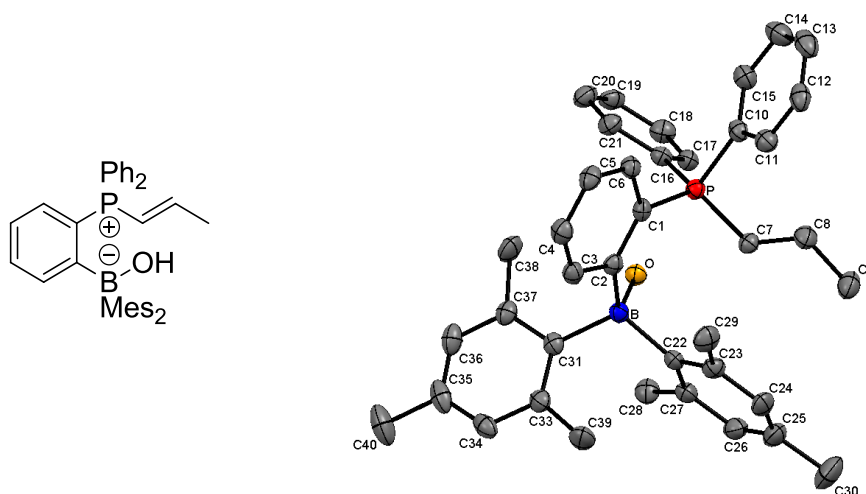
FT-IR (cm⁻¹): 3421; 2979; 2934; 1707; 1669; 1496; 1439; 1342; 1255; 1214; 1164; 1142; 1111; 1054; 1027; 998; 963; 833; 736; 692

[(2-Dimesitylboryl)phenyl]diphenylphosphine 175⁹⁴

Under Ar atmosphere, to a solution of *o*-bromo phenyl phosphine **127** (0.75 g, 2.1 mmol) in dry Et₂O (15 mL) at room temperature was added dropwise a solution of *n*-BuLi (2.5 M in hexane, 0.9 mL, 2.25 mmol). After 10 minutes of stirring, a precipitate appeared. The supernatant was eliminated by filtration, and the precipitate was dissolved in 5 mL of dry toluene. A solution of fluorodimesitylborane (0.56 g, 2.2 mmol) in dry toluene (6 mL) was added at -78°C. The mixture was allowed to warm to room temperature, and the solvent evaporated. The residue was crystalized in an ether solution to give **175** as **yellow crystals**. (**m**= 0.54 g, **yield**= 52%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2.11 (bs, 18H, CH_{3-Mes}), 6.62 (bs, 4H, CH_{mes}), 6.73-6.91 (m, 4H, CH_{arom}), 7.06-7.26 (m, 10H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ -9.03

(E)-[(Hydroxyl)dimesitylborato]phenyl-2-diphenyl(prop-1-en-1-yl)phosphonium 177

This compound was only characterized by RX structure (p 78).

Table 1. Crystal data and structure refinement for **177**

Identification code	177
Empirical formula	C ₃₉ H ₄₂ B O P
Formula weight	568.51
Temperature	115(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	orthorhombic, P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁

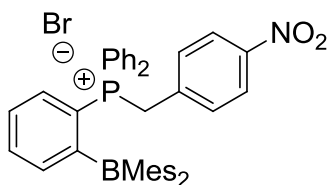
Unit cell dimensions	a = 11.8007(3) Å alpha = 90 deg. b = 11.9491(3) Å beta = 90 deg. c = 23.3746(7) Å gamma = 90 deg.
Volume	3296.00(15) Å ³
Z, Calculated density	4, 1.150 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.114 mm ⁻¹
F(000)	1216
Crystal size	0.25 x 0.24 x 0.08 mm
Theta range for data collection	1.74 to 27.48 deg.
Limiting indices	-15 ≤ h ≤ 15, -15 ≤ k ≤ 15, -30 ≤ l ≤ 30
Reflections collected / unique	7180 / 7180 [R(int) = 0.0000]
Completeness to theta = 27.48	97.9 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	7180 / 0 / 387
Goodness-of-fit on F ²	1.159
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0555, wR2 = 0.1058
R indices (all data)	R1 = 0.0629, wR2 = 0.1108
Absolute structure parameter	0.05(11)
Largest diff. peak and hole	0.221 and -0.258 e.Å ⁻³

Table 2. Bond lengths [Å] and angles [deg] for **177**

C(1)-C(6)	1.408(3)
C(1)-C(2)	1.409(3)
C(1)-P	1.822(2)
C(2)-C(3)	1.406(3)
C(2)-B	1.646(4)
C(3)-C(4)	1.383(4)
C(4)-C(5)	1.379(4)
C(5)-C(6)	1.386(4)
C(7)-C(8)	1.319(4)
C(7)-P	1.787(2)
C(8)-C(9)	1.491(4)
C(10)-C(15)	1.382(4)
C(10)-C(11)	1.404(4)
C(10)-P	1.823(2)
C(11)-C(12)	1.384(4)
C(12)-C(13)	1.387(4)
C(13)-C(14)	1.380(4)
C(14)-C(15)	1.391(4)
C(16)-C(17)	1.388(4)
C(16)-C(21)	1.391(4)
C(16)-P	1.805(2)
C(17)-C(18)	1.392(4)
C(18)-C(19)	1.379(4)
C(19)-C(20)	1.384(4)
C(20)-C(21)	1.384(4)

C(22)-C(23)	1.419(4)
C(22)-C(27)	1.423(4)
C(22)-B	1.662(4)
C(23)-C(24)	1.398(4)
C(23)-C(29)	1.517(4)
C(24)-C(25)	1.382(4)
C(25)-C(26)	1.389(4)
C(25)-C(30)	1.518(4)
C(26)-C(27)	1.395(4)
C(27)-C(28)	1.507(4)
C(31)-C(33)	1.414(4)
C(31)-C(37)	1.419(4)
C(31)-B	1.671(4)
C(33)-C(34)	1.399(4)
C(33)-C(39)	1.520(4)
C(34)-C(35)	1.387(4)
C(35)-C(36)	1.381(4)
C(35)-C(40)	1.507(4)
C(36)-C(37)	1.404(4)
C(37)-C(38)	1.513(4)
O-B	1.514(3)
C(6)-C(1)-C(2)	122.0(2)
C(6)-C(1)-P	115.36(19)
C(2)-C(1)-P	122.61(19)
C(3)-C(2)-C(1)	114.9(2)
C(3)-C(2)-B	121.0(2)
C(1)-C(2)-B	123.6(2)
C(4)-C(3)-C(2)	123.7(2)
C(5)-C(4)-C(3)	119.9(2)
C(4)-C(5)-C(6)	119.4(3)
C(5)-C(6)-C(1)	120.1(2)
C(8)-C(7)-P	124.8(2)
C(7)-C(8)-C(9)	123.8(3)
C(15)-C(10)-C(11)	119.1(2)
C(15)-C(10)-P	121.7(2)
C(11)-C(10)-P	119.2(2)
C(12)-C(11)-C(10)	120.3(3)
C(11)-C(12)-C(13)	120.0(3)
C(14)-C(13)-C(12)	120.0(3)
C(13)-C(14)-C(15)	120.4(3)
C(10)-C(15)-C(14)	120.3(3)
C(17)-C(16)-C(21)	120.2(2)
C(17)-C(16)-P	120.3(2)
C(21)-C(16)-P	119.5(2)
C(16)-C(17)-C(18)	119.3(2)
C(19)-C(18)-C(17)	120.4(3)
C(18)-C(19)-C(20)	120.2(2)
C(19)-C(20)-C(21)	120.0(3)

C(20)-C(21)-C(16)	119.9(3)
C(23)-C(22)-C(27)	115.8(2)
C(23)-C(22)-B	126.7(2)
C(27)-C(22)-B	117.2(2)
C(24)-C(23)-C(22)	121.0(3)
C(24)-C(23)-C(29)	115.5(2)
C(22)-C(23)-C(29)	123.5(2)
C(25)-C(24)-C(23)	122.6(3)
C(24)-C(25)-C(26)	117.0(3)
C(24)-C(25)-C(30)	122.0(3)
C(26)-C(25)-C(30)	121.0(3)
C(25)-C(26)-C(27)	122.2(3)
C(26)-C(27)-C(22)	121.3(3)
C(26)-C(27)-C(28)	116.0(3)
C(22)-C(27)-C(28)	122.6(2)
C(33)-C(31)-C(37)	115.4(2)
C(33)-C(31)-B	124.0(2)
C(37)-C(31)-B	120.5(2)
C(34)-C(33)-C(31)	121.1(3)
C(34)-C(33)-C(39)	115.7(2)
C(31)-C(33)-C(39)	123.2(2)
C(35)-C(34)-C(33)	122.7(3)
C(36)-C(35)-C(34)	116.8(3)
C(36)-C(35)-C(40)	121.4(3)
C(34)-C(35)-C(40)	121.8(3)
C(35)-C(36)-C(37)	122.0(3)
C(36)-C(37)-C(31)	121.6(3)
C(36)-C(37)-C(38)	115.2(3)
C(31)-C(37)-C(38)	123.2(2)
C(7)-P-C(16)	113.26(12)
C(7)-P-C(1)	116.26(11)
C(16)-P-C(1)	112.27(12)
C(7)-P-C(10)	103.61(12)
C(16)-P-C(10)	104.72(12)
C(1)-P-C(10)	105.24(12)
O-B-C(2)	102.9(2)
O-B-C(22)	102.2(2)
C(2)-B-C(22)	117.7(2)
O-B-C(31)	112.9(2)
C(2)-B-C(31)	107.1(2)
C(22)-B-C(31)	113.6(2)

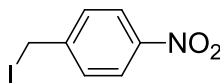
[2-(Dimesitylboryl)phenyl](4-nitrobenzyl)diphenyl phosphonium bromide 178

To a solution of phosphonium borane **175** (0.30 g, 0.59 mmol) in 3 mL of dry chloroform stabilized with amylene was added 4-nitrobenzyl bromide (0.25 g, 1.18 mmol). After 3 days of stirring at 58°C, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in dry dichloromethane and precipitated with ether to afford a **white solid** with **52% yield (m= 0.18 g)**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2.00 (s, 9H, CH_{3-Mes}), 2.26 (s, 9H, CH_{3-Mes}), 5.43 (d, J = 15.0 Hz, 2H, P⁺CH₂), 6.68 (bs, 4H, CH_{Mes}), 6.87-6.88 (m, 2H, CH_{arom}), 7.39-7.70 (m, 14H, CH_{arom}), 8.12-8.17 (m, 2H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +24.43

HRMS calculated for C₄₃H₄₂BNO₂P [M-Br]⁺: 646.30481 found 646.30077

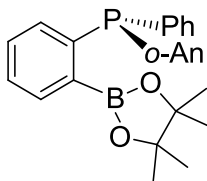
4-Nitrobenzyl iodide 179¹⁵⁰

To a solution of 4-nitrobenzyl bromide **155** (1.5 g, 6.90 mmol) in 50 mL of acetone were added of sodium iodide (2.07 g, 13.80 mmol). After stirring at 50°C overnight, the solvent was evaporated and, the residue was purified by column chromatography (AcOEt/EP 1:9 to pur AcOEt) to afford a **yellow solid (m= 1.40 g, yield= 77%)**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4.41 (s, 2H, CH₂), 7.43- 7.47 (m, 2H, CH_{arom}), 8.10-8.14 (m, 2H, CH_{arom})

R_f = 0.21 (AcOEt/EP 1:4)

¹⁵⁰ Hajipour, A. R.; Falahati, A. R.; Ruoho, A. E. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 4191.

(S)- (2-Methoxyphenyl) -phenyl-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2- dioxaborolan-2-yl)-phenyl] phosphine 188¹²⁶

To a solution of *o*-bromo-phosphine **187** (0.22 g, 0.56 mmol) in dry THF (2 mL) was added dropwise under argon, at -78°C *n*-BuLi (0.24 mL, 0.6 mmol). The resulting solution was stirred at this temperature during 1 hour and 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (0.26 mL, 1.12 mmol) was then added dropwise. After 30 minutes at -78°C and 20 hours at room temperature, the reaction mixture was quenched with water (10 mL) and extracted with dichloromethane (3*10 mL). The organic phases were dried over MgSO_4 , filtered and the solvent evaporated giving a residue which was purified by column chromatography on silica gel (elution with 3:1 EP/AcOEt) to afford a **white solid (m= 0.18 g, yield=77%)**.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.01-1.02 (2s, 12H, $\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 3.68 (s, 3H, CH_3), 6.60 (ddd, $J=1.7, 4.3, 7.4$ Hz, 1H, CH_{arom}), 6.81-6.86 (m, 2H, CH_{arom}), 6.97 (dd, $J=4.0, 7.5$ Hz, 1H, CH_{arom}), 7.00 (td, $J=1.0, 7.5$ Hz, 1H, CH_{arom}), 7.13-7.17 (m, 3H, CH_{arom}), 7.23-7.26 (m, 3H, CH_{arom}), 7.29 (tdd, $J=0.5, 1.5, 8.0$ Hz, 1H, CH_{arom}), 7.73-7.75 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3): δ -15.4

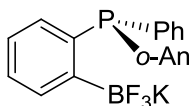
^{13}C NMR (75.5 MHz, CDCl_3): δ 24.48 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 24.56 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 55.66 (OCH_3), 83.75 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 110.04 (d, $J=1.5$ Hz, CH_{arom}), 121.04 (CH_{arom}), 127.01 (CH_{arom}), 127.20 (d, $J=13.9$ Hz, C_{q}), 128.27 (d, $J=7.3$ Hz, CH_{arom}), 128.39 (CH_{arom}), 130.04 (CH_{arom}), 130.37 (CH_{arom}), 132.15 (d, $J=1.2$ Hz, CH_{arom}), 134.04 (CH_{arom}), 134.45 (CH_{arom}), 134.72 (CH_{arom}), 135.47 (d, $J=9.0$ Hz, CH_{arom}), 138.00 (d, $J=11.7$ Hz, C_{q}), 143.38 (d, $J=19.0$ Hz, C_{q}), 161.37 (d, $J=15.8$ Hz, C_{q}), 1 C_{q} not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{PBO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 419.19463 found 419.19320

mp: 149°C , $[\alpha]_{\text{D}}: -21.20$ ($c=0.3$, CHCl_3), **Rf:** 0.33 (EP/AcOEt 5:1); **ee**>99%*

FT-IR (cm^{-1}): 3053, 2978, 2932, 1583, 1471, 1430, 1379, 1347, 1313, 1271, 1240, 1143, 1101, 1047, 1024, 963, 858, 744, 697

*By HPLC analysis (Chiralpak AD, $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, hexane/2-propanol 99:1), t_{R} (R) = 26.4 min, t_{R} (S) = 34.1 min

(S)-2-(Potassium trifluoroborate)(2-methoxyphenyl)(phenyl)phosphine 189¹²⁶

O-boronato phenyl phosphine **188** (0.12 g, 0.29 mmol) was dissolved in MeOH (3 mL) and treated with a solution of KHF₂ (0.09 g, 1.6 mmol) in water (1 mL). The resulting solution was stirred for 2 hours at room temperature and a white precipitate formed. The mixture was filtered to afford a white solid, which was washed with H₂O, and then dried under vacuum (**m**= 0.05g, **yield**= 43%).

¹H NMR (500 MHz, Acetone D₆): δ 3.71 (s, 3H, OCH₃), 6.73 (ddd, J= 2.0, 4.5, 7.5 Hz, 1H, CH_{arom}), 6.81-6.86 (m, 2H, CH_{arom}), 6.97 (dd, J= 4.0, 7.5 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.00 (td, J= 1.0, 7.5 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.13-7.17 (m, 3H, CH_{arom}), 7.23-7.26 (m, 3H, CH_{arom}), 7.29 (tdd, J= 0.5, 1.5, 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.73-7.75 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, Acetone D₆): δ -21.4 (q, J= 36.4 Hz)

¹¹B NMR (96 MHz, Acetone D₆): δ +3.5

¹⁹F NMR (470 MHz, Acetone D₆): δ -136.52

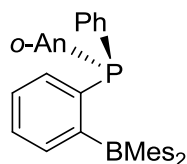
¹³C NMR (125 MHz, Acetone D₆): δ 55.1 (CH₃), 110.31 (d, J= 1.3 Hz, CH_{arom}), 120.65 (CH_{arom}), 125.65 (CH_{arom}), 126.86 (CH_{arom}), 127.17 (CH_{arom}), 127.66 (d, J= 5.0 Hz, CH_{arom}), 128.2 (d, J= 15.1 Hz, C_q), 129.30 (CH_{arom}), 132.51 (dq, J= 3.8, 13.8 Hz, CH_{arom}), 133.13 (CH_{arom}), 133.20 (CH_{arom}), 133.72 (CH_{arom}), 134.04 (CH_{arom}), 138.15 (d, J= 11.3 Hz, C_q), 140.14 (d, J= 11.3 Hz, C_q), 161.15 (d, J= 16.4 Hz, C_q), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₁₉H₁₆OPBF₃ [M-K]⁺ 359.0981 found 359.0974

mp: < 40 °C; [**α**]_D = +59.20 (c= 0.3, CHCl₃), **ee** > 98%*

FT-IR (cm⁻¹): 3048, 2937, 1729, 1579, 1467, 1429, 1374, 1235, 1191, 1125, 1067, 1042, 994, 943, 792, 746, 697

*By ³¹P NMR with (R)-(+)-di-μ-chlorobis{2[1-(dimethylamino)ethyl]phenyl-C,N}dipalladium complex as resolving agent

(S)-(2-Dimesitylboryl)phenyl(2-methoxyphenyl)phenyl phosphine 190¹²⁶

190 (10%)

To a solution of o-bromophosphine **187** (0.10 g, 0.26 mmol) in dry THF (2 mL) at -78°C was added dropwise a solution of *n*-BuLi (2.5 M in hexane, 0.11 mL, 0.29 mmol). The resulting mixture was stirred at -78°C for 1 hour, then followed by the addition of FBMes₂ (0.10 g, 0.41

mmol). After stirring another 30 minutes at this temperature, the mixture is allowed to warm to room temperature overnight. The solvent was evaporated, and 5 mL of ether were added in order to precipitate the salts. The supernatant was filtered and evaporated to obtain a **white solid (yield <10%)**.

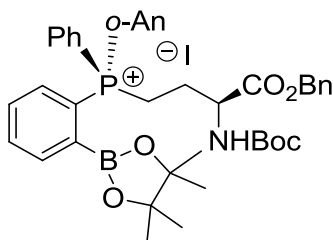
¹H NMR (500 MHz, Acetone d₆): δ 2.18-2.23 (bs, 18H, CH_{3-Mes}), 3.6 (s, 3H, OCH₃), 6.75-7.37 (m, 17H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, Acetone d₆): δ -15.3 (bs)

HRMS calculated for C₃₇H₃₈OPBNa [M+Na]⁺: 563.26520 found 563.26424

FT-IR (cm⁻¹): 2951, 2910, 1604, 1572, 1457, 1426, 1374, 1268, 1239, 1214, 1178, 1154, 1123, 1093, 1070, 1020, 841, 795, 752, 693, 666

(S)- {(S)-4- (Benzyloxy)-3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-oxobutyl} (2- methoxyphenyl) (phenyl)[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]phosphonium iodide 192



Under Ar atmosphere, to a solution of phenyl *o*-anisyl pinacol borane **188** (0.15 g, 0.36 mmol) in degassed toluene (1 mL), the iodo amino ester derivative **105** (0.16 g, 0.38 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for 18 hours at room temperature. After removing the solvent, the residue was purified by column chromatography (silica gel, DCM/Acetone 3:1) to afford the phosphonium derivative **192** (**m**= 0.23 g, **yield**= 77%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.96 (s, 6H, CH_{3-pin}), 1.02 (s, 6H, CH_{3-pin}), 1.35 (s, 9H, CH_{3-Boc}), 2.00-2.36 (m, 2H, CH₂), 3.51-3.73 (m, 2H, CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 4.14-4.18 (m, 1H, CHN), 5.11 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.11 (bs, 1H, NH), 7.04-7.36 (m, 9H, CH_{arom}), 7.56-7.68 (m, 5H, CH_{arom}), 7.57-7.81 (m, 3H, CH_{arom}), 8.14-8.22 (m, 1H, CH_{arom})

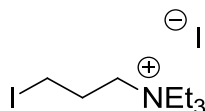
³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +28.88 ppm (91%, diastereoisomer 1), +28.30 ppm (9%, diastereoisomer 2)

¹¹B NMR (96 MHz, CDCl₃): δ No signal observed

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 22.14 (d, J= 55.6 Hz, P⁺CH₂), 24.40 (CH_{3-pin}), 24.55 (CH_{3-pin}), 26.59 (CH₂), 28.26 (CH_{3-Boc}), 53.98 (d, J= 19.4 Hz, CHN), 56.72 (OCH₃), 67.33 (OCH₂), 79.99 (C_{q-Boc}), 85.36 (C_{q-pin}), 107.67 (d, J= 88.4 Hz, P⁺C_q), 112.84 (d, J= 6.5 Hz, CH_{arom}), 121.27 (d, J= 88.9 Hz, P⁺C_q), 122.2 (d, J= 85.2 Hz, P⁺C_q), 122.54 (d, J= 12.4 Hz, CH_{arom}), 128.31 (CH_{arom}), 128.48 (CH_{arom}), 130.09 (d, J= 12.9 Hz, CH_{arom}), 132.11 (d, J= 13.1 Hz, CH_{arom}), 133.04 (d, J= 9.8 Hz, CH_{arom}), 133.58 (d, J= 3.1 Hz, CH_{arom}), 134.24 (d, J= 2.8 Hz, CH_{arom}), 135.12 (d, J= 8.2 Hz, CH_{arom}), 135.25 (CH), 135.64 (d, J= 12.6 Hz, CH_{arom}), 137.66 (CH), 139.07 (d, J= 13.9 Hz, CH_{arom}), 155.73 (C_q), 161.41 (CO), 170.88 (CO), 1 C_q not observed

Rf: 0.60 (DCM/Acetone 3:1)

N,N,N-Triethyl-3-iodopropan-1-ammonium iodide 194



To a solution of 1,3-diiodopropane **193** (0.43 mL, 3.8 mmol) in 1 mL of toluene was added of triethylamine (0.5 mL, 3.8 mmol). After stirring at 70°C overnight, the solvent was evaporated, and then the residue was washed with dichloromethane to afford a **white solid** (m= 0.95 g, yield= 63%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO D₆): δ 1.18 (t, J= 6.0 Hz, 9H, CH₃), 2.05-2.10 (m, 2H, CH_{2-alkyl}), 3.15- 3.29 (m, 10H, CH₂)

¹³C NMR (75 MHz, DMSO D₆): 2.49 (CH₂I), 7.62 (CH₃), 25.44 (CH₂), 52.74 (CH₂N), 56.86 (CH₂N)

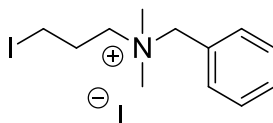
HRMS calculated for C₉H₂₁NI [M-I]⁺: 270.07132 found 270.07021

mp: 190°C

FT-IR (cm⁻¹): 2975, 2763, 2678, 2360, 1573, 1455, 1400, 1303, 1187, 1089, 1030, 941, 885, 794, 726, 701

Elemental analysis calculated for C₉H₂₁I₂N (397,12): C 27.22, H 5.33, N 3.53 found C 27.93, H 5.66, N 3.99

N-Benzyl-3-iodo-N,N-dimethylpropan-1-ammonium iodide 196

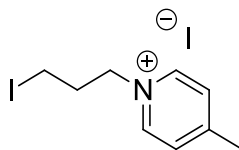


To a solution of 1,3-diiodopropane **193** (0.43 mL, 3.8 mmol) in 1 mL of acetonitrile was added *N*-Benzyl-*N,N*-dimethylamine (0.57 mL, 3.8 mmol). After stirring at 60°C overnight, a precipitate was observed. The filtrate was eliminated, and then the residue was washed with dichloromethane to afford a **white solid** (m= 1.10 g, yield= 69%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO D₆): δ 2.29-2.39 (m, 2H, CH_{2-pr}), 2.97 (s, 6H, CH₃N), 3.24- 3.30 (m, 4H, CH_{2-pr}), 4.55 (s, 2H, CH_{2-Benzyl}), 7.53-7.57 (m, 5 H, CH_{arom})

¹³C NMR (75 MHz, DMSO D₆): 2.32 (CH₂I), 26.21 (CH₂), 49.83 (CH₃N), 64.49 (CH₂N), 67.27 (CH₂N), 128.35 (C_q), 129.41 (CH_{arom}), 130.83 (CH_{arom}), 133.46 (CH_{arom})

HRMS calculated for C₁₂H₁₉NI [M-I]⁺: 304.05567 found 304.05423

1-(3-Iodopropyl)-4-methylpyridinium iodide 198¹³¹

To a solution of 1,3-diiodopropane **193** (0.58 mL, 5.0 mmol) in 5 mL of ACN was added of 4-picoline (0.09 g, 1.0 mmol). After 4 hours of stirring at 80°C, the acetonitrile was removed *in vacuo* and the residue was rinsed with ethyl acetate (3*10 mL) to afford a **yellow solid** (**m= 0.38 g, yield= 97%**).

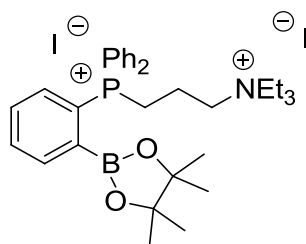
¹H NMR (300 MHz, DMSO D₆): δ 2.42-2.45 (m, 2H, CH_{2-pro}), 2.60 (s, 3H, CH₃), 3.20- 3.24 (m, 2H, CH_{2I}), 4.54-4.58 (m, 2H, CH_{2N}), 7.97-7.99 (m, 2H, CH_{arom}), 8.88-8.90 (m, 2H, CH_{arom})

mp: 161°C

FT-IR (cm⁻¹): 3408, 3366, 3027, 3000, 2968, 2815, 2282, 2053, 2013, 1990, 1940, 1867, 1843, 1583, 1462, 1390, 1348, 1312, 1216, 1186, 1158, 1030, 995, 933, 883, 786, 720, 705

General procedure for the preparation of o-boronate phosphonium/ ammonium salts 195/197

Under Ar atmosphere, to a solution of pinacol borane phosphine **125** (1.1 eq) in 2 mL of degazed acetonitrile was added of iodo propane ammonium salt **194/196** (1 eq). After 1 night of stirring at 60°C, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane, and then precipitated with ether.

Diphenyl [2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl][3-(triethylammonium)propyl] phosphonium iodide 195


Under the above conditions, pinacol phenyl borane phosphine **125** (0.41 g, 1.03 mmol) and iodotriethylammonium **194** (0.38 g, 0.99 mmol) afforded phosphonium salt (**m= 0.57 g, yield= 74%**) as a **white solid**.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.94 (s, 12H, CH_{3-pin}), 1.27-1.30 (m, 9H, CH_{3-t}), 2.30-2.33 (m, 2H, CH₂), 3.53-3.56 (m, 6H, CH_{2-t}), 3.85-3.91 (m, 2H, CH₂), 4.01-4.05 (m, 2H, CH₂), 7.72-8.04 (m, 13H, CH_{arom}), 8.22-8.24 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃): δ +27.47

^{11}B NMR (96 MHz, CDCl_3): No signal observed

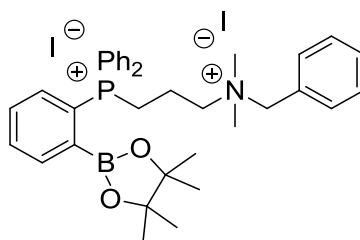
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 8.24 (CH_3), 17.84 (CH_2), 22.75 (d, $J = 53.0$ Hz, P^+CH_2), 24.44 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 54.04 (CH_2N_t), 58.12 (d, $J = 22.4$ Hz, CH_2N), 85.36 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 119.56 (d, $J = 88.3$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 121.19 (d, $J = 84.4$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 130.56 (d, $J = 13.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.41 (d, $J = 13.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 133.97 (d, $J = 10.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.23 (d, $J = 3.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 134.56 (d, $J = 2.9$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 137.28 (d, $J = 12.4$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 139.21 (d, $J = 13.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 1 C_{q} not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{BNO}_2\text{PI}$ $[\text{M-I}]^+$: 658.24825 found 658.24789

mp: 142°C

FT-IR (cm^{-1}): 3463, 3439, 3417, 2977, 2871, 2150, 2006, 1964, 1674, 1613, 1583, 1559, 1478, 1436, 1374, 1344, 1269, 1210, 1166, 1140, 1110, 1052, 996, 961, 853, 824, 726, 693

[3- (Benzyltrimethylammonium) propyl] diphenyl [2-(4,4,5,5- tetramethyl- 1,3,2-dioxaborolan-2-yl)]phenyl phosphonium diiodide 197



Under the above conditions, pinacol phenyl borane phosphine **125** (0.18 g, 0.45 mmol) and *N*-benzyl-3-iodo-*N,N*-dimethylpropan-1-ammonium **196** (0.16 g, 0.37 mmol) afforded phosphonium salt (**m** = 0.27 g, **yield** = 89%) as a **white solid**.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 0.87 (s, 12H, $\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 2.30-2.32 (m, 2H, CH_2), 3.12 (s, 6H, CH_3), 3.69-3.75 (m, 2H, CH_2), 4.34-4.37 (m, 2H, CH_2), 4.79 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Benzyl}$), 7.32-7.93 (m, 18H, CH_{arom}), 8.17-8.20 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (202 MHz, CDCl_3): δ +27.29

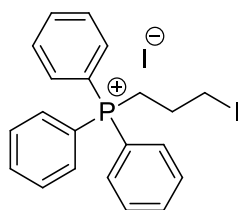
^{11}B NMR (160 MHz, CDCl_3): No signal observed

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 18.65 (CH_2), 21.84 (d, $J = 54.1$ Hz, P^+CH_2), 24.49 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 50.24 (NCH_3), 63.99 (d, $J = 21.0$ Hz, CH_2N), 68.29 ($\text{CH}_2\text{-BnN}$), 85.44 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 119.44 (d, $J = 87.1$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 121.57 (d, $J = 83.37$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 126.63 ($\text{C}_{\text{q-Bn}}$), 129.28 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 130.51 (d, $J = 12.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 130.92 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 133.24-133.33 (m, 2 CH_{arom}), 133.94 (d, $J = 9.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.19 (d, $J = 3.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 134.59 (d, $J = 3.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 136.93 (d, $J = 12.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 139.47 (d, $J = 13.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 1 C_{q} not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{BNO}_2\text{PI}$ $[\text{M-I}]^+$: 692.23264 found 692.22928

mp: 151°C

FT-IR (cm^{-1}): 3448, 3053, 2977, 2876, 1982, 1617, 1585, 1480, 1437, 1375, 1340, 1269, 1213, 1167, 1139, 1110, 1053, 995, 962, 928, 853, 824, 724, 691

(3-Iodopropyl)triphenylphosphonium iodide 200¹³²

To a solution of triphenylphosphine **121** (1.00 g, 3.8 mmol) in 3 mL of degased toluene was added 1,3-diiodopropane **193** (0.43 mL, 3.8 mmol). After stirring at 70°C overnight, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in DCM, and then precipitated with ether. The product is obtained as a **yellow solid** with **66% yield (m= 1.38 g)**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2.20-2.23 (m, 2H, CH₂), 3.65 (td, J= 3.56, 6.22 Hz, 2H, CH₂I), 3.98-4.08 (m, 2H, CH₂P⁺), 7.72-7.90 (m, 15H, CH_{arom})

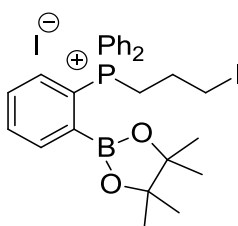
³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +23.76

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 6.79 (d, J= 20.3 Hz, ICH₂), 24.12 (d, J= 51.8 Hz, P⁺CH₂), 26.85 (d, J= 2.3 Hz, CH₂), 117.88 (d, J= 85.5 Hz, P⁺Cq), 130.58 (d, J= 12.9 Hz, CH_{arom}), 133.76 (d, J= 10.3 Hz, CH_{arom}), 135.26 (d, J= 3.0 Hz, CH_{arom})

HRMS calculated for C₂₁H₂₁PI₂ [M-I]⁺: 431.04201 found 431.04081

mp: 195°C

FT-IR (cm⁻¹): 3072, 3049, 3034, 3004, 2978, 2884, 2865, 2795, 1985, 1911, 1830, 1784, 1684, 1585, 1483, 1335, 1319, 1291, 1241, 1205, 1152, 1108, 1028, 995, 960, 929, 856, 830, 743, 719, 688

(3-Iodopropyl) diphenyl[2- 4,4,5,5- tetramethyl -1,3,2-dioxaborolan- 2- yl] phenyl] phosphonium iodide 202

The reaction was carried out under an Ar atmosphere. To a solution of phosphine boronate **125** (0.10 g, 0.26 mmol) in 3 mL of degased toluene was added 1,3-diiodopropane **193** (0.03 mL, 0.26 mmol). After 4 hours of stirring at 76°C, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in DCM, and then precipitated with ether. The product is obtained as a **yellow solid (m= 0.16 g, yield= 90%)**.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.02 (s, 12H, CH_{3-pin}), 2.17-2.22 (m, 2H, CH₂), 3.63-3.67 (m, 2H, CH₂I), 4.05-4.15 (m, 2H, CH₂P⁺), 7.51-7.90 (m, 13H, CH_{arom}), 8.25-8.26 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃): δ +26.86

^{11}B NMR (96 MHz, CDCl_3): δ 30.38

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 6.6 (d, J = 21.1 Hz, ICH_2), 24.51 (s, $\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 25.06 (d, J = 50.6 Hz, P^+CH_2), 28.25 (d, J = 2.3 Hz, CH_2), 85.45 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 120.92 (d, J = 86.8 Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 122.07 (d, J = 83.0 Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 130.42 (d, J = 12.8 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 132.37 (d, J = 12.8 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 133.28 (d, J = 9.8 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.03 (d, J = 3.0 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 134.47 (d, J = 3.0 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 136.57 (d, J = 12.1 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 139.31 (d, J = 13.6 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 1 C_{q} not observed

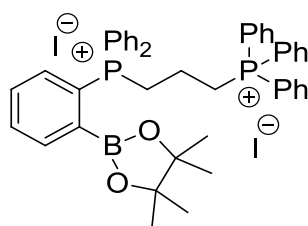
HRMS calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{BI}_2\text{O}_2\text{P}$ $[\text{M-I}]^+$: 557.12770 found 557.12538

mp: 200°C

FT-IR (cm^{-1}): 2973, 2876, 2798, 1584, 1482, 1437, 1372, 1334, 1268, 1211, 1166, 1140, 1127, 1110, 1053, 995, 960, 853, 822, 745, 721, 690, 667, 649

Elemental analysis calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{BI}_2\text{O}_2\text{P}$ (684): C 47.40, H 4.71 found C 46.94, H 4.61

{3- [Diphenyl (2,4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl) phenyl] phosphonium} propyl triphenylphosphonium iodide 201



The reaction was carried out under an Ar atmosphere. To a solution of iodo phosphonium **202** (0.10 g, 0.15 mmol) in 3 mL of acetonitrile was added triphenylphosphine (0.03 mL, 0.26 mmol). After 2 nights of stirring at 60°C, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in DCM, and then precipitated with ether. The product is obtained as a **white solid** with **67 % yield (m = 0.10 g)**.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0.78 (s, 12H, $\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 1.71-1.74 (m, 2H, CH_2), 4.21-4.27 (m, 2H, CH_2P^+), 4.35-4.39 (m, 2H, CH_2P^+), 7.55-7.90 (m, 27H, CH_{arom}), 8.15-8.17 (m, 1H, CH_{arom}), 8.59 (dd, J = 7.9, 15.9 Hz, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3): δ +24.12 (d, J = 10.9 Hz), +26.56 (d, J = 10.9 Hz)

^{11}B NMR (96 MHz, CDCl_3): δ +30.17

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 17.98 (CH_2), 22.71 (dd, J = 18.5, 52.1 Hz, CH_2P^+), 24.28 ($\text{CH}_{3\text{-pin}}$), 25.31 (d, J = 18.5, 52.1 Hz, P^+CH_2), 85.03 ($\text{C}_{\text{q-pin}}$), 117.3 (d, J = 87.3 Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 120.28 (d, J = 87.3 Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 129.84 (d, J = 12.9 Hz, CH_{arom}), 130.42 (d, J = 12.7 Hz, CH_{arom}), 133.54 (d, J = 10.2 Hz, CH_{arom}), 133.98 (d, J = 3.0 Hz, CH_{arom}), 134.09 (d, J = 10.2 Hz, CH_{arom}), 134.96 (d, J = 2.8 Hz, CH_{arom}), 137.78 (d, J = 13.0 Hz, CH_{arom}), 138.87 (d, J = 12.4 Hz, CH_{arom}), 2 C_{q} + 2 CH_{arom} not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{45}\text{H}_{48}\text{BO}_2\text{P}$ $[\text{M-2I+H}]^+$: 691.30683 found 691.30501

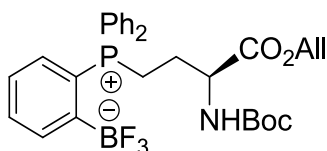
mp: 156°C

IR (cm⁻¹): 3381, 3051, 2984, 2861, 2792, 1584, 1481, 1435, 1374, 1337, 1266, 1190, 1165, 1138, 1109, 1053, 994, 961, 851, 822, 722, 687, 651

General procedure for preparation of trifluoroborate phosphonium aminoesters 203

O-boronate phosphonium amino ester **148** (1eq) was dissolved in methanol (1.4 mL) and treated with a solution of KHF₂ (4 eq) in water (1.1 mL). After 1h of stirring at 50°C, the mixture was extracted with dichloromethane (2*5 mL). The organic layer was dried with MgSO₄, and evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then precipitated with ether.

(S)-{4-(Allyloxycarbonyl)-3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]propyl 2-trifluoroboratephenyl} diphenyl phosphonium **203a**¹¹⁰



Under the above conditions, o-boronate phosphonium amino allyl **148a** (0.35 g, 0.46 mmol), MeOH (1.4 mL), H₂O (1.1 mL) and KHF₂ (0.14 g, 1.84 mmol) afforded phosphonium trifluoroborate amino allyl (**m**= **0.22 g**, **yield= 84%**) as a **white solid**.

¹H NMR (500 MHz, DMSO D₆): δ 1.39 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.92-1.96 (m, 2H, CH₂), 3.48-3.55 (m, 2H, P⁺CH₂), 4.12-4.16 (m, 1H, CHN), 4.49-4.52 (m, 2H, OCH₂), 5.14-5.21 (m, 2H, CH₂=), 5.81-5.88 (m, 1H, CH=), 7.05-7.10 (m, 1H, CH_{arom}), 7.35-7.38 (m, 2H, CH_{arom}), 7.60-7.70 (m, 9H, CH_{arom}+ NHBoc), 7.80-7.81 (m, 2H, CH_{arom}), 7.85-7.88 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, DMSO D₆): δ +29.31

¹¹B NMR (160 MHz, DMSO D₆): δ +2.46

¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO D₆): δ -132.02

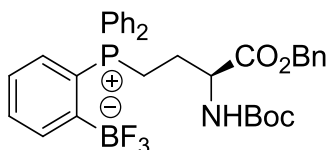
¹³C NMR (75 MHz, DMSO D₆): δ 20.31 (d, J= 48.1 Hz, P⁺CH₂), 24.96 (CH₂), 28.08 (CH₃-Boc), 53.91 (d, J= 17.7 Hz, CHN), 64.83 (OCH₂), 78.65 (C_q-Boc), 117.39 (CH₂=), 118.90 (d, J= 83.6 Hz, P⁺C_q), 121.70 (d, J= 85.5 Hz, P⁺C_q), 121.80 (d, J= 85.9 Hz, P⁺C_q), 126.90 (d, J= 13.5 Hz, CH_{arom}-PhB), 129.42 (d, J= 9.3 Hz, CH_{arom}-Ph), 129.58 (d, J= 9.3 Hz, CH_{arom}-Ph), 132.23 (CH=), 132.76 (d, J= 3.3 Hz, CH_{arom}-PhB), 133.10 (d, J= 9.8 Hz, CH_{arom}-Ph), 133.28 (d, J= 9.7 Hz, CH_{arom}-Ph), 133.58 (d, J= 2.3 Hz, CH_{arom}-Ph), 133.67 (d, J= 2.8 Hz, CH_{arom}-Ph), 134.31 (d, J= 14.4 Hz, CH_{arom}-PhB), 135.03 (d, J= 14.9 Hz, CH_{arom}-PhB), 155.48 (CO_{Boc}), 171.06 (CO_{Allyl}), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₀H₃₄BNO₄PCl [M+Cl]⁻: 606.19590 found 606.19684

mp: 75°C; [α]_D: +14.40 (c= 0.1, CHCl₃)

FT-IR (cm⁻¹): 3376, 2976, 1707, 1511, 1439, 1366, 1251, 1161, 1109, 1049, 1017, 991, 940, 858, 740, 690

(S)- {4-Benzoyloxycarbonyl}- 3-[(tert-butoxycarbonyl) amino]- propyl- 2-trifluoroborate) phenyl} diphenyl phosphonium 203b¹¹⁰



Under the above conditions, *o*-boronate phosphonium amino benzyl **148b** (0.26 g, 0.32 mmol), MeOH (1.1 mL), H₂O (0.9 mL) and KHF₂ (0.10 g, 1.3 mmol) afforded phosphonium trifluoroborate amino benzyl (**m**= **0.18 g**, **yield= 90%**) as a **white solid**.

¹H NMR (500 MHz, DMSO D₆): δ 1.38 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.94-1.96 (m, 2H, CH₂), 3.46-3.55 (m, 2H, P⁺CH₂), 4.16-4.17 (m, 1H, CHN), 5.03-5.19 (m, 2H, OCH₂), 7.06-7.10 (m, 1H, CH_{arom}), 7.26-7.67 (m, 16H, CH_{arom}+ NHBoc), 7.78-7.80 (m, 2H, CH_{arom}), 7.81-7.82 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, DMSO D₆): δ +29.29

¹¹B NMR (160 MHz, DMSO D₆): δ +2.73

¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO D₆): δ -131.95

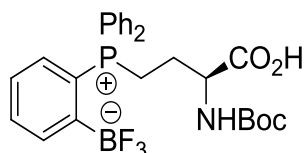
¹³C NMR (75 MHz, DMSO D₆): δ 19.25 (d, J= 48.0 Hz, P⁺CH₂), 23.85 (CH₂), 26.98 (CH₃-Boc), 52.88 (d, J= 17.9 Hz, CHN), 64.90 (OCH₂), 77.47 (C_q-Boc), 117.77 (d, J= 84.8 Hz, P⁺C_q), 120.61 (d, J= 85.7 Hz, P⁺C_q), 121.66 (d, J= 84.8 Hz, P⁺C_q), 125.80 (d, J= 13.2 Hz, CH_{arom}-PhB), 126.53 (CH_{arom}-Bn), 126.82 (CH_{arom}-Bn), 127.18 (CH_{arom}-Bn), 128.30 (d, J= 11.7 Hz, CH_{arom}-Ph), 128.44 (d, J= 11.7 Hz, CH_{arom}-Ph), 131.64 (d, J= 2.1 Hz, CH_{arom}-PhB), 131.99 (d, J= 8.5 Hz, CH_{arom}-Ph), 132.15 (d, J= 8.5 Hz, CH_{arom}-Ph), 132.51 (d, J= 2.3 Hz, CH_{arom}-Ph), 132.61 (d, J= 2.3 Hz, CH_{arom}-Ph), 133.21 (d, J= 14.5 Hz, CH_{arom}-PhB), 133.97 (d, J= 16.5 Hz, CH_{arom}-PhB), 134.65 (C_q-Bn), 154.39 (CO_{Boc}), 170.16 (CO_{Benzyl}), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₄H₃₆BF₃NO₄PNa [M+Na]⁺: 644.23253 found 644.23150

mp: 80°C; [**α**]_D: -20.21 (c= 0.3, CHCl₃)

FT-IR (cm⁻¹): 3361, 2976, 1707, 1512, 1439, 1366, 1249, 1161, 1109, 1049, 1019, 942, 740, 693

(S)- {3 -[(Tert-butoxyamino)- 3- (hydroxycarbonyl) propyl] 2-(trifluoroborate phenyl) diphenylphosphonium 203c¹¹⁰



0.4 mL of aqueous solution of NaOH 1M was added to a solution of 0.2 mmol of boronate phosphonium amino esters **148a-b** in 4 mL of a mixture of dioxane and water (8/2). After being stirred overnight at room temperature, the aqueous layer was washed with ether and acidified with acetic acid until pH= 3 and then, extracted by dichloromethane. The organic

layer was dried with MgSO_4 and evaporated. Without further purification, the residue (≈ 0.1 mmol) was dissolved in MeOH (0.5 mL) and treated with a solution of KHF_2 (4 eq, 0.4 mmol) in water (0.4 mL). The resulting solution was stirred for 1 hour at room temperature. The mixture was extracted by dichloromethane (2×5 mL) and the organic layer was dried with MgSO_4 . After evaporation, the compound is obtained as a white solid (**m**= 0.05 g, 50% yield from **148a**; **m**= 0.045 g, 42% yield from **148b**).

^1H NMR (500 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}-d_3$): 1.44 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Boc}$), 1.99-2.01 (m, 1H, CH_2), 2.14-2.16 (m, 1H, CH_2), 3.40-3.51 (m, 2H, P^+CH_2), 4.17 (bs, 1H, CHN), 5.82 (bs, 1H, NHBoc), 7.18 (dd, $J = 8.0, 14.5$ Hz, 1H, CH_{arom}), 7.36 (tdd, $J = 1.5, 4.5, 7.5$ Hz, 1H, CH_{arom}), 7.55-7.79 (m, 12H, $\text{CH}_{\text{arom}} + \text{COOH}$), 7.97-8.00 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (121 MHz, CD_3CN): δ +28.74

^{11}B NMR (160 MHz, CD_3CN): δ +2.52

^{19}F NMR (470 MHz, CD_3CN): δ -134.08

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ 21.26 (d, $J = 45.8$ Hz, P^+CH_2), 26.17 (CH_2), 28.16 ($\text{CH}_3\text{-Boc}$), 54.42 (d, $J = 15.8$ Hz, CHN), 79.78 ($\text{C}_{\text{q-Boc}}$), 118.92 (d, $J = 85.0$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 123.17 (d, $J = 85.0$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 123.21 (d, $J = 86.3$ Hz, $\text{P}^+\text{C}_{\text{q}}$), 127.58 (d, $J = 13.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 130.08 (d, $J = 12.0$ Hz, $2\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.52 (d, $J = 3.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 133.63 (d, $J = 11.3$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.76 (d, $J = 12.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.10 (d, $J = 1.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.14 (d, $J = 1.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 135.52 (d, $J = 15.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 135.79 (dq, $J = 2.3, 16.5$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 156.38 (CO_{Boc}), 173.28 (CO_{acide}), 1 C_{q} not observed

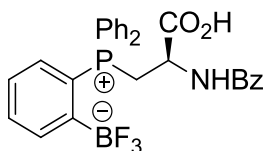
HRMS calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{BF}_3\text{NO}_4\text{P}$ [M-H] $^-$: 530.18787 found 530.19022

mp: 150°C; **$[\alpha]_{\text{D}}$:** +27.86 ($c = 0.3$, CHCl_3); **ee** > 98%*

FT-IR (cm^{-1}): 2976, 2930, 1706, 1509, 1438, 1367, 1162, 1109, 1050, 1019, 943, 741, 691, 608, 531, 515

* By ^{31}P NMR analysis of the phosphonium salt in the presence of 2-(dimethylamino)-1-phenylpropan-1-ol

(R)-[2- Benzamido- 2-(hydroxycarbonyl)ethyl] (2-trifluoroborate phenyl) diphenyl phosphonium 204b¹¹⁰



Phosphonium serine derivative **138b** (0.10 g, 0.10 mmol) was dissolved in methanol (0.5 mL) and treated with a solution of KHF_2 (0.05 g, 0.60 mmol) in water (0.4 mL). After 1 hour of stirring at room temperature, the mixture was extracted with DCM (2×5 mL), then the organic phase was dried with MgSO_4 , and the solvent evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then precipitated with ether. The compound was obtained as a **yellow solid** with 71% yield (0.05 g).

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 3.57-3.67 (m, 1H, P⁺CH₂), 4.34-4.42 (m, 1H, P⁺CH₂), 4.77-4.83 (m, 1H, CHN), 7.17-7.25 (m, 5H, CH_{arom}), 7.35-7.42 (m, 3H, CH_{arom}), 7.49-7.56 (m, 7H, CH_{arom}), 7.66-7.82 (m, 3H, CH_{arom}), 7.94-7.97 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CD₃CN): δ +25.81

¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ +2.69

¹⁹F NMR (470 MHz, CD₃CN): δ -132.00

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 25.89 (dq, J = 5.7, 58.6 Hz, P⁺CH₂), 48.27 (d, J = 5.2 Hz, CHN), 119.85 (d, J = 83.5 Hz, P⁺C_q), 120.68 (d, J = 84.9 Hz, P⁺C_q), 122.12 (d, J = 88.8 Hz, P⁺C_q), 127.43 (CH_{arom-Bn}), 127.87 (d, J = 13.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 128.86 (CH_{arom-Bn}), 130.04 (d, J = 12.8 Hz, CH_{arom-Ph}), 130.32 (d, J = 12.8 Hz, CH_{arom-Ph}), 132.53 (CH_{arom-Bn}), 133.23 (C_{q-Bn}), 133.46 (d, J = 9.5 Hz, CH_{arom-Ph}), 133.70 (d, J = 3.3 Hz, CH_{arom}), 134.46 (d, J = 3.3 Hz, CH_{arom}), 134.72 (d, J = 9.5 Hz, CH_{arom-Ph}), 134.81 (d, J = 2.9 Hz, CH_{arom}), 135.38 (d, J = 14.7 Hz, CH_{arom-PhB}), 136.08 (dq, J = 3.4, 16.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 167.88 (CO), 170.87 (d, J = 17.4 Hz, CO), 1 C_q not observed

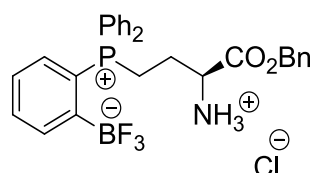
HRMS calculated for C₂₈H₂₃BF₂NO₃PNa [M-H-F+Na]⁺: 524.13738 found 524.13638

mp: 160°C; **ee** > 90%*

FT-IR (cm⁻¹): 3371, 3059, 3001, 2931, 1721, 1661, 1642, 1580, 1529, 1484, 1437, 1408, 1332, 1271, 1236, 1182, 1106, 1073, 1052, 1020, 980, 934, 825, 797, 744, 710, 688

* By ³¹P NMR analysis of the phosphonium salt in the presence of 2-(dimethylamino)-1-phenylpropan-1-ol

(S)- [3- Amino- 3-(benzyloxycarbonyl)] propyl- 2-trifluoroborate phenyl diphenyl phosphonium hydrochloride 205¹¹⁰



0.18 g (0.24 mmol) of phosphonium **151b** was dissolved in methanol (1 mL) and treated with a solution of 0.08 g (1 mmol) of KHF₂ in water (0.8 mL). After 1 hour of stirring at 50°C, the mixture was extracted with DCM (2*5 mL), then the organic phase was dried with MgSO₄, and the solvent evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then precipitated with ether. The compound was obtained as a **white solid** with **67% yield (0.09 g)**.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 2.22-2.30 (m, 2H, CH₂), 3.49-3.64 (m, 2H, P⁺CH₂), 4.13 (bs, 1H, CHN), 5.09-5.21 (m, 2H, OCH₂), 7.15-7.18 (m, 1H, CH_{arom}), 7.20-7.37 (m, 6H, CH_{arom}), 7.51-7.70 (m, 11H, CH_{arom}), 7.96-7.98 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (121 MHz, CD₃CN): δ +28.35

¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ +2.64

¹⁹F NMR (470 MHz, CD₃CN): δ -133.71

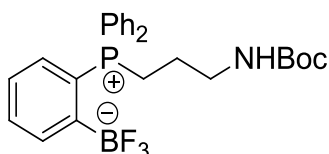
^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ 20.90 (d, $J = 55.9$ Hz, P^+CH_2), 25.74 (CH_2), 53.99 (d, $J = 19.6$ Hz, CHN), 68.34 (OCH_2), 122.32 (d, $J = 87.5$ Hz, P^+C_q), 122.80 (d, $J = 87.5$ Hz, P^+C_q), 127.77 (d, $J = 13.6$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 128.93 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 129.00 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 129.11 ($\text{CH}_{\text{arom-Bn}}$), 130.07 (d, $J = 10.6$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 130.19 (d, $J = 10.6$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.66-133.97 (m, 2 CH_{arom}), 134.36 (d, $J = 11.7$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 135.70 ($\text{C}_{q-\text{Bn}}$), 135.96 (d, $J = 14.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 170.07 (CO), 1 C_q not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{BNO}_2\text{PF}_2$ $[\text{M}-\text{Cl}-\text{H}-\text{F}]^+$: 502.19075 found 502.19184

mp: 123°C

FT-IR (cm^{-1}): 3055, 2929, 2890, 1982, 1952, 1743, 1587, 1523, 1498, 1486, 1438, 1184, 1109, 1071, 1049, 1017, 995, 940, 738, 691

{2- (Trifluoroboratephenyl) -diphenyl-3- (tert-butoxycarbonyl) amino propyl} phosphonium 211



O-boronate phosphonium **172** (0.20 g, 0.3 mmol) was dissolved in methanol (0.8 mL) and treated with a solution of KHF_2 (0.09 g, 1.2 mmol) in water (0.7 mL). After 30 minutes of stirring at 50°C, the mixture was extracted with DCM (2*5 mL). The organic phase was dried with MgSO_4 , and evaporated. The compound was obtained as a **white solid** with **61% yield** (**m= 0.09 g**).

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ 1.41 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Boc}$), 1.80-1.85 (m, 2H, CH_2), 3.17-3.20 (q, $J = 6.24$ Hz, 2H, CH_2N), 3.34-3.41 (m, 2H, CH_2P^+), 5.45-5.47 (m, 1H, NH), 7.16 (dd, $J = 7.80$, 14.32 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.35 (tdd, $J = 1.26$, 3.26, 7.54 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.54-7.58 (m, 4H, CH_{arom}), 7.62-7.68 (m, 5H, CH_{arom}), 7.76-7.80 (m, 2H, CH_{arom}), 7.97-7.98 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (202 MHz, CD_3CN): δ +28.88

^{11}B NMR (160 MHz, CD_3CN): δ +2.45

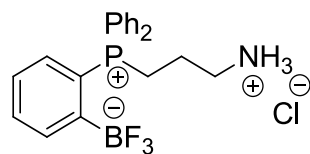
^{19}F NMR (470 MHz, CD_3CN): δ -134.20

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ 22.00 (dq, $J = 4.7$, 53.2 Hz, CH_2P^+), 24.46 (CH_2), 28.23 ($\text{CH}_3\text{-Boc}$), 41.11 (d, $J = 21.2$ Hz, CH_2), 78.98 ($\text{C}_{q-\text{Boc}}$), 119.31 (d, $J = 82.5$ Hz, P^+C_q), 123.40 (d, $J = 85.2$ Hz, P^+C_q), 127.47 (d, $J = 13.6$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 130.05 (d, $J = 11.6$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.57 (d, $J = 3.4$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 133.89 (d, $J = 9.3$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 134.22 (d, $J = 3.2$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 135.56 (d, $J = 14.6$ Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 135.94 (dq, $J = 2.8$, 16.6 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 157.09 (C_q), 1 C_q not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{BF}_3\text{NO}_2\text{PNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 510.19562 found 510.19758

mp: 190°C

FT-IR (cm^{-1}): 3432, 3060, 2975, 2934, 2872, 1697, 1587, 1496, 1439, 1393, 1365, 1314, 1288, 1245, 1163, 1110, 1046, 997, 944, 893, 871, 741, 691

{2-(Trifluoroboratephenyl)-diphenyl-3- amino propyl} phosphonium hydrochloride 212

Boronate phosphonium/ ammonium **173** (0.13 g, 0.21 mmol) was dissolved in methanol (0.8 mL) and treated with a solution of KHF_2 (0.07 g, 0.92 mmol) in water (0.7 mL). After 30 minutes of stirring at 50°C , the mixture was extracted with DCM (2*5 mL). The organic phase was dried with MgSO_4 , and the solvent was evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then precipitated with ether. The compound was obtained as a **white solid** with **67% yield (m= 0.06 g)**.

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ 2.06-2.12 (m, 2H, CH_2), 3.07-3.10 (m, 2H, CH_2N), 3.44-3.51 (m, 2H, CH_2P^+), 7.21 (dd, J = 8.0, 14.5 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.36-7.39 (m, 1H, CH_{arom}), 7.56-7.78 (m, 11H, CH_{arom}), 7.97-8.00 (m, 1H, CH_{arom})

^{31}P NMR (202 MHz, CD_3CN): δ +28.40

^{11}B NMR (160 MHz, CD_3CN): δ +2.60

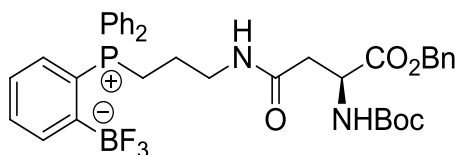
^{19}F NMR (282 MHz, CD_3CN): δ -134.11

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ 21.87 (dq, J = 5.4, 56.2 Hz, P^+CH_2), 22.11 ($\text{CH}_2\text{-alkyl}$), 40.84 (d, J = 20.4 Hz, CH_2N), 118.37 (d, J = 84.1 Hz, P^+C_q), 122.99 (d, J = 86.5 Hz, P^+C_q), 127.77 (d, J = 13.8 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 130.18 (d, J = 12.0 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-Ph}}$), 133.85-134.41 (m, 3 CH_{arom}), 135.93 (dq, J = 3.9, 16.9 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 136.07 (d, J = 14.8 Hz, $\text{CH}_{\text{arom-PhB}}$), 1 C_q not observed

HRMS calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{BF}_2\text{NP}$ [M-F-H-Cl] $^+$: 368.15493 found 368,15344

mp: 158°C

FT-IR (cm^{-1}): 3052, 2976, 2893, 1608, 1589, 1485, 1437, 1398, 1318, 1184, 1109, 1049, 990, 940, 886, 737, 690

(S)-2-(Trifluoroborate) phenyl-diphenyl-3-[N-3- (tert-butoxycarbonyl)amino-3- (benzyl oxy carbonyl propanoyl)]amino propyl phosphonium 213

The phosphonium salt **174** (0.08 g, 0.09 mmol) was dissolved in methanol (0.4 mL) and treated with a solution of KHF_2 (0.03 g, 0.40 mmol) in water (0.3 mL). After 40 minutes of stirring at 50°C , the mixture was extracted with DCM (2*5 mL). The organic phase was dried with MgSO_4 , and the solvent was evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then precipitated with ether. The compound was obtained as a **white solid** with **50% yield (m= 0.03 g)**.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 1.40 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.81-1.86 (m, 2H, CH₂-alkyl), 2.64-2.66 (m, 2H, CH₂-amino), 3.27-3.39 (m, 4H, CH₂P⁺, CH₂N), 4.48-4.50 (m, 1H, CHN), 5.08 (s, 2H, OCH₂), 5.94-5.96 (bs, 1H, NH), 6.64-6.66 (m, 1H, CH_{arom}), 7.13-7.19 (m, 1H, CH_{arom}), 7.33-7.37 (m, 5H, CH_{arom}), 7.52-7.79 (m, 11H, CH_{arom}), 7.98-8.01 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CD₃CN): δ +28.92

¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ +2.58

¹⁹F NMR (470 MHz, CD₃CN): δ -134.18

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 21.92 (dq, J= 4.7, 52.9 Hz, P⁺CH₂), 23.86 (d, J= 3.5 Hz, CH₂), 28.14 (CH₃-Boc), 37.62 (CH₂-amino), 39.77 (d, J= 16.2 Hz, CH₂N), 51.28 (CHN), 67.13 (OCH₂), 79.72 (C_q-Boc), 119.07 (d, J= 84.9 Hz, P⁺C_q), 123.31 (d, J= 88.3 Hz, P⁺C_q), 127.54 (d, J= 13.1 Hz, CH_{arom}), 128.43 (CH_{arom}), 128.68 (CH_{arom}), 129.05 (CH_{arom}), 130.06 (d, J= 12.2 Hz, CH_{arom}), 133.61 (d, J= 3.5 Hz, CH_{arom}), 133.88 (dd, J= 3.9 Hz, CH_{arom}), 134.22 (d, J= 3.1 Hz, CH_{arom}), 135.61 (d, J= 14.4 Hz, CH_{arom}), 135.99 (dq, J= 3.1, 16.6 Hz, CH_{arom}), 136.67 (C_q), 156.03 (CO), 170.62 (CO), 172.22 (CO), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₇H₄₁BN₂O₅PF₃Na [M+Na]⁺: 715.26969 found 715.27104

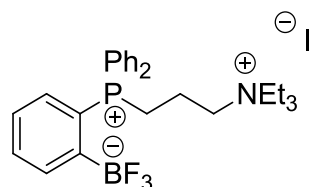
mp: 127 °C

FT-IR (cm⁻¹): 3385, 3060, 2976, 2934, 1709, 1666, 1535, 1493, 1439, 1366, 1339, 1286, 1251, 1163, 1110, 1050, 1017, 996, 943, 841, 740, 692

General procedure for the preparation of trifluoroborate phosphonium ammonium salts **214/215**

Phosphonium/ ammonium salts **195/197** (1eq) were dissolved in methanol (0.3 mL) and treated with a solution of KHF₂ (4 eq) in water (0.25 mL). After 30 minutes of stirring at 50°C, the mixture was extracted with DCM (2*5 mL). The organic layer was dried with MgSO₄, and evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane and then precipitated with ether.

[(2-Trifluoroborate phenyl] diphenyl [3-(triethylammonium iodide) propyl] phosphonium **214**



Under the above conditions, the phosphonium/ ammonium salt **195** (0.08 g, 0.1 mmol), MeOH (0.3mL), H₂O (0.25 mL) and KHF₂ (0.03 g, 0.4 mmol) afforded phosphonium trifluoroborate ammonium salt (**m**= **0.05 g**, **yield= 83%**) as a **white solid**.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 1.19-1.21 (m, 9H, CH₃-t), 2.07-2.10 (m, 2H, CH₂), 3.18-3.20 (m, 6H, CH₂CH₃), 3.33-3.34 (m, 2H, CH₂P⁺), 3.44-3.47 (m, 2H, CH₂N), 7.24 (dd, J= 7.5, 14.6 Hz, 1H, CH_{arom}), 7.39-7.41 (m, 1H, CH_{arom}), 7.57-7.83 (m, 11H, CH_{arom}), 8.00-8.03 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CD₃CN): δ 28.44

¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ 2.67

¹⁹F NMR (282 MHz, CD₃CN): δ -134.17

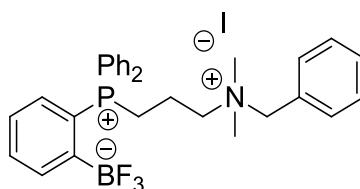
¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 7.34 (CH₃), 15.21 (CH_{2-alkyl}), 21.56 (d, J= 55.0 Hz, P⁺CH₂), 53.61 (CH₃CH₂N), 57.14 (d, J= 23.6 Hz, CH₂N), 122.79 (d, J= 86.3 Hz, P⁺C_q), 127.75 (d, J= 13.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 130.24 (d, J= 12.5 Hz, CH_{arom-Ph}), 133.91-134.52 (m, 3 CH_{arom}), 135.89 (dq, J= 3.8, 20.0 Hz, CH_{arom-PhB}), 136.33 (d, J= 15.0 Hz, CH_{arom-PhB}), 2 C_q not observed

HRMS calculated for C₂₇H₃₅BF₃NP [M-I]⁺: 472.25516 found 472.25266

mp: 136°C

FT-IR (cm⁻¹): 3430, 3053, 2979, 2881, 1621, 1587, 1480, 1437, 1374, 1344, 1267, 1164, 1140, 1110, 1075, 1049, 994, 963, 941, 887, 853, 824, 736, 691

(2-Trifluoroborate) phenyl) diphenyl [(3- (Benzyldimethylammonium iodide) propyl] phosphonium 215



Under the above conditions, the phosphonium/ ammonium salt **197** (0.27 g, 0.33 mmol), MeOH (0.8 mL), H₂O (0.7 mL) and KHF₂ (0.10 g, 1.2 mmol) afforded phosphonium trifluoroborate ammonium salt (**m= 0.19 g, yield= 91%**) as a **white solid**.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 2.26-2.31 (m, 2H, CH₂), 2.93 (s, 6H, CH₃), 3.30-3.47 (m, 2H, CH₂P⁺), 3.50-3.54 (m, 2H, CH₂N⁺), 4.46 (s, 2H, CH₂N⁺), 7.19-7.82 (m, 18H, CH_{arom}), 8.17-8.20 (m, 1H, CH_{arom})

³¹P NMR (202 MHz, CD₃CN): δ +28.77

¹¹B NMR (160 MHz, CD₃CN): δ +2.62

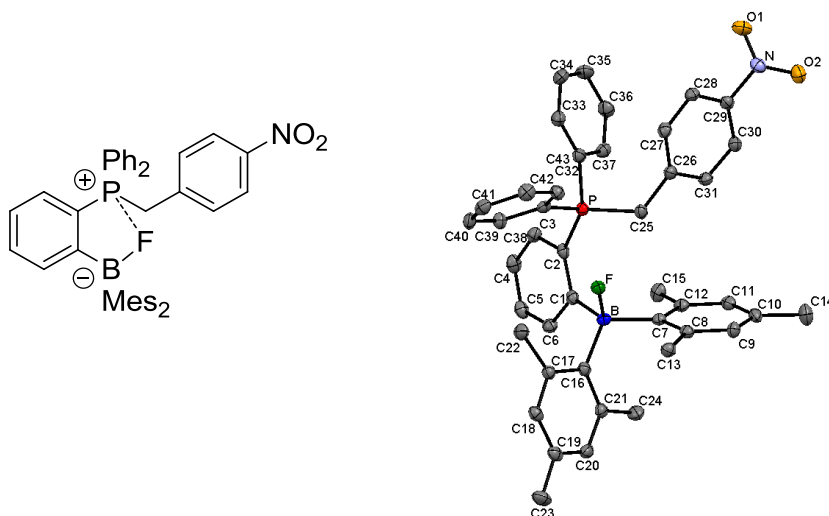
¹⁹F NMR (202 MHz, CD₃CN): δ -134.93

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 18.11 (CH₂), 21.84 (d, J= 54.5 Hz, P⁺CH₂), 50.27 (CH₃N), 64.85 (d, J= 19.3 Hz, CH₂N), 68.93 (CH₂N), 117.96 (d, J= 85.9 Hz, P⁺C_q), 123.08 (d, J= 86.3 Hz, P⁺C_q), 127.85 (d, J= 13.5 Hz, CH_{arom-PhB}), 127.89 (C_q), 129.89 (CH_{arom-Bn}), 130.42 (d, J= 12.2 Hz, CH_{arom-Ph}), 131.49 (CH_{arom-Bn}), 133.78 (CH_{arom-Bn}), 134.04-134.11 (m, 2 CH_{arom}), 134.68 (d, J= 2.5 Hz, CH_{arom-Ph}), 135.89 (dq, J= 3.75, 20.0 Hz, CH_{arom-PhB}), 136.43 (d, J= 14.8 Hz, CH_{arom-PhB}), 1 C_q not observed

HRMS calculated for C₃₀H₃₃BF₃NP [M-I]⁺: 506.23956 found 506.23684

mp: 149°C

FT-IR (cm⁻¹): 3051, 3006, 2971, 2881, 2821, 1586, 1555, 1481, 1437, 1340, 1264, 1182, 1109, 992, 966, 942, 738, 692

Fluoro{dimesityl[2-(4-nitrobenzyl)diphenylphosphonium]phenyl}borate 217

O-boronate phosphonium **178** (0.10 g, 0.15 mmol) in dry THF (5 mL) was treated with TBAT (0.08 g, 0.15 mmol). After 4 hours of stirring at room temperature, the solvent was evaporated. The residue was extracted with a mixture acetone/isopropyl alcohol (1:4). The supernatant was evaporated until saturation, and precipitated with ether. The precipitate was isolated by filtration to afford the compound as a **white solid** with **10 % yield (m= 0.01 g)**.

³¹P NMR (202 MHz, DMSO D₆): δ +31.34 (d, J= 18.1 Hz)

¹¹B NMR (160 MHz, DMSO D₆): δ +6.75

¹⁹F NMR (202 MHz, DMSO D₆): δ -150.86

HRMS calculated for C₄₃H₄₂BFNO₂PNa [M+Na]⁺: 688.29297 found 688.28803

FT-IR (cm⁻¹): 2971, 2864, 2936, 1599, 1522, 1483, 1436, 1357, 1314, 1229, 1156, 1107, 1017, 997, 851, 842, 823, 812, 751, 724, 703, 637, 525, 505, 449, 374

Table 1. Crystal data and structure refinement for **217**

Identification code	217
Empirical formula	C ₄₃ H ₄₂ B F N O ₂ P
Formula weight	665.56
Temperature	115(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	monoclinic, P21/c
Unit cell dimensions	a = 12.7641(3) Å alpha = 90 deg. b = 15.2256(3) Å beta = 108.6690(10) deg. c = 18.7635(5) Å gamma = 90 deg.
Volume	3454.65(14) Å ³
Z, Calculated density	4, 1.280 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.124 mm ⁻¹
F(000)	1408
Crystal size	0.15 x 0.12 x 0.05 mm

Theta range for data collection	2.37 to 27.48 deg.
Limiting indices	-16<=h<=16, -19<=k<=18, -24<=l<=24
Reflections collected / unique	14208 / 7884 [R(int) = 0.0466]
Completeness to theta = 27.48	99.3 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	7884 / 0 / 448
Goodness-of-fit on F ²	1.108
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0652, wR2 = 0.1169
R indices (all data)	R1 = 0.0895, wR2 = 0.1295
Largest diff. peak and hole	0.349 and -0.383 e.A ⁻³

Table 2. Bond lengths [Å] and angles [deg] for **217**

C(1)-C(2)	1.412(3)
C(1)-C(6)	1.413(3)
C(1)-B	1.632(4)
C(2)-C(3)	1.408(3)
C(2)-P	1.810(2)
C(3)-C(4)	1.377(4)
C(4)-C(5)	1.390(4)
C(5)-C(6)	1.379(4)
C(7)-C(12)	1.418(3)
C(7)-C(8)	1.421(3)
C(7)-B	1.668(4)
C(8)-C(9)	1.395(3)
C(8)-C(13)	1.517(3)
C(9)-C(10)	1.394(4)
C(10)-C(11)	1.385(4)
C(10)-C(14)	1.505(3)
C(11)-C(12)	1.401(3)
C(12)-C(15)	1.517(4)
C(16)-C(21)	1.415(3)
C(16)-C(17)	1.423(3)
C(16)-B	1.653(4)
C(17)-C(18)	1.395(3)
C(17)-C(22)	1.517(3)
C(18)-C(19)	1.382(4)
C(19)-C(20)	1.393(4)
C(19)-C(23)	1.506(4)
C(20)-C(21)	1.396(3)
C(21)-C(24)	1.522(4)
C(25)-C(26)	1.506(3)
C(25)-P	1.846(2)
C(26)-C(27)	1.395(3)
C(26)-C(31)	1.398(3)
C(27)-C(28)	1.385(3)
C(28)-C(29)	1.389(3)
C(29)-C(30)	1.382(3)

C(29)-N	1.471(3)
C(30)-C(31)	1.391(3)
C(32)-C(33)	1.386(3)
C(32)-C(37)	1.406(3)
C(32)-P	1.810(3)
C(33)-C(34)	1.391(4)
C(34)-C(35)	1.375(4)
C(35)-C(36)	1.395(4)
C(36)-C(37)	1.380(4)
C(38)-C(39)	1.394(3)
C(38)-C(43)	1.397(3)
C(38)-P	1.806(2)
C(39)-C(40)	1.385(3)
C(40)-C(41)	1.385(4)
C(41)-C(42)	1.387(4)
C(42)-C(43)	1.385(3)
N-O(1)	1.223(3)
N-O(2)	1.230(3)
F-B	1.483(3)
C(2)-C(1)-C(6)	115.0(2)
C(2)-C(1)-B	124.6(2)
C(6)-C(1)-B	120.3(2)
C(3)-C(2)-C(1)	121.7(2)
C(3)-C(2)-P	114.43(19)
C(1)-C(2)-P	123.62(19)
C(4)-C(3)-C(2)	120.7(2)
C(3)-C(4)-C(5)	119.2(2)
C(6)-C(5)-C(4)	119.9(2)
C(5)-C(6)-C(1)	123.5(2)
C(12)-C(7)-C(8)	116.0(2)
C(12)-C(7)-B	126.8(2)
C(8)-C(7)-B	117.0(2)
C(9)-C(8)-C(7)	121.3(2)
C(9)-C(8)-C(13)	116.0(2)
C(7)-C(8)-C(13)	122.7(2)
C(10)-C(9)-C(8)	122.5(2)
C(11)-C(10)-C(9)	116.4(2)
C(11)-C(10)-C(14)	121.6(2)
C(9)-C(10)-C(14)	122.0(2)
C(10)-C(11)-C(12)	123.1(2)
C(11)-C(12)-C(7)	120.8(2)
C(11)-C(12)-C(15)	115.2(2)
C(7)-C(12)-C(15)	124.0(2)
C(21)-C(16)-C(17)	115.8(2)
C(21)-C(16)-B	124.2(2)
C(17)-C(16)-B	120.0(2)
C(18)-C(17)-C(16)	120.8(2)

C(18)-C(17)-C(22)	116.6(2)
C(16)-C(17)-C(22)	122.5(2)
C(19)-C(18)-C(17)	122.5(2)
C(18)-C(19)-C(20)	116.9(2)
C(18)-C(19)-C(23)	121.8(2)
C(20)-C(19)-C(23)	121.2(2)
C(19)-C(20)-C(21)	121.9(2)
C(20)-C(21)-C(16)	121.3(2)
C(20)-C(21)-C(24)	116.2(2)
C(16)-C(21)-C(24)	122.4(2)
C(26)-C(25)-P	116.42(17)
C(27)-C(26)-C(31)	118.9(2)
C(27)-C(26)-C(25)	121.9(2)
C(31)-C(26)-C(25)	119.2(2)
C(28)-C(27)-C(26)	121.2(2)
C(27)-C(28)-C(29)	117.8(2)
C(30)-C(29)-C(28)	123.2(2)
C(30)-C(29)-N	118.9(2)
C(28)-C(29)-N	117.8(2)
C(29)-C(30)-C(31)	117.7(2)
C(30)-C(31)-C(26)	121.2(2)
C(33)-C(32)-C(37)	119.5(2)
C(33)-C(32)-P	121.9(2)
C(37)-C(32)-P	118.09(19)
C(32)-C(33)-C(34)	120.0(2)
C(35)-C(34)-C(33)	120.3(3)
C(34)-C(35)-C(36)	120.3(3)
C(37)-C(36)-C(35)	119.8(3)
C(36)-C(37)-C(32)	120.1(2)
C(39)-C(38)-C(43)	119.4(2)
C(39)-C(38)-P	118.60(18)
C(43)-C(38)-P	121.97(19)
C(40)-C(39)-C(38)	120.4(2)
C(41)-C(40)-C(39)	120.1(2)
C(40)-C(41)-C(42)	119.7(2)
C(43)-C(42)-C(41)	120.6(2)
C(42)-C(43)-C(38)	119.7(2)
O(1)-N-O(2)	124.4(2)
O(1)-N-C(29)	118.0(2)
O(2)-N-C(29)	117.6(2)
C(38)-P-C(32)	107.51(11)
C(38)-P-C(2)	108.82(11)
C(32)-P-C(2)	106.55(12)
C(38)-P-C(25)	111.28(11)
C(32)-P-C(25)	103.70(11)
C(2)-P-C(25)	118.27(11)
F-B-C(1)	102.89(19)
F-B-C(16)	109.18(19)

C(1)-B-C(16)	109.9(2)
F-B-C(7)	103.63(19)
C(1)-B-C(7)	117.2(2)
C(16)-B-C(7)	112.99(19)

III. ^{19}F NMR spectroscopic Kinetic Analyses

General procedure

Samples of trifluoroborate salts (5 mg) were dissolved in 0.2 mL CD_3CN and 0.8 mL H_2O phosphate buffer (pH 7.11, 200 mM).

The ^{19}F NMR spectra of each sample were acquired at different times during 1 to 3 days. Decomposition of the phosphonium aryltrifluoroborate species was monitored by integration of the decreasing aryltrifluoroborate signal in conjunction with the increasing signal corresponding to free F^- using Bruker Topspin 3.1 processing software. The kinetic curves reported in **Figure 41** are the results of nonlinear regression analyses of the cumulative plot of all data sets for identical experiments, using excel[®] 14.1.3 version.

The rate constants, k_{obs} were calculated using a method reported in the literature.¹³⁶

Table 15: Kinetic data for the hydrolysis of 103 ($k_{\text{obs}} = 9.68 \cdot 10^{-6} \text{ min}^{-1}$)

Time (min)	[F ⁻]	[BF ₃]	[BF ₃]/([BF ₃]+[F ⁻])
0	0	100	1
60	0.58	100	0,994233446
240	0.95	100	0,990589401
1440	2.1	100	0,979431929
2880	3.5	100	0,966183575
4320	4.55	100	0.956480153

Table 16: Kinetic data for the hydrolysis of 203b ($k_{\text{obs}} = 4.93 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$)

Time (min)	[F ⁻]	[BF ₃]	[BF ₃]/([BF ₃]+[F ⁻])
0	0	100	1
60	2.81	100	0,972668028
120	4	100	0,961538462
240	4.77	100	0,9544717
1440	10.8	100	0,908430233
2880	18.23	100	0,845809016
4320	26.32	100	0.791640279

Table 17: Kinetic data for the hydrolysis of 203c ($k_{\text{obs}} = 2.22 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$)

Time (min)	[F]	[BF ₃]	[BF ₃]/([BF ₃]+[F])
0	0	100	1
60	1.59	100	0,984348853
120	2.19	100	0,978569332
240	2.75	100	0,97323601
1440	5.28	100	0,949848024
4320	11.43	100	0,897424392

Table 18: Kinetic data for the hydrolysis of 204b ($k_{\text{obs}} = 1.28 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$)

Time (min)	[F]	[BF ₃]	[BF ₃]/([BF ₃]+[F])
0	0	100	1
60	0.67	100	0,993344591
120	0.99	100	0,990197049
240	1.37	100	0,986485153
1440	2.3	100	0,977517107
2880	3.94	100	0,962093515
4320	6.56	100	0.938438438

Table 19: Kinetic data for the hydrolysis of 219 ($k_{\text{obs}} = 0.057 \text{ min}^{-1}$)

Time (min)	[F]	[BF ₃]	[BF ₃]/([BF ₃]+[F])
0	0	100	1
5	97	100	0,507614213
10	180	100	0,357142857
20	334	100	0,230414747
30	557	100	0,152207002
50	2145	100	0,04454343

Table 20: Kinetic data for the hydrolysis of 212

Time (min)	[F]	[BF ₃]	[BF ₃]/(BF ₃)+[F]
0	0	100	1
180	1.15	100	0,98863075
300	1.96	100	0,98077678
1440	3.13	100	0,96964996
2880	4.76	100	0,95456281

Table 21: Kinetic data for the hydrolysis of 214

Time (min)	[F]	[BF ₃]	[BF ₃]/(BF ₃)+[F]
0	0	100	1
60	2.72	100	0,97352025
120	3.75	100	0,96385542
240	4.76	100	0,95456281
1440	12.08	100	0,89221984
2880	21.12	100	0,82562748

Table 22: Kinetic data for the hydrolysis of 215

Time (min)	[F]	[BF ₃]	[BF ₃]/(BF ₃)+[F]
0	0	100	1
60	0.84	100	0,99166997
120	1.31	100	0,98706939
240	2.36	100	0,97694412
1440	5.41	100	0,9486766
2880	8.23	100	0,92395824

IV. Radiosynthesis

^{18}F -fluoride ion production

No-carrier-added [^{18}F]-fluoride was produced via the $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ nuclear reaction by irradiation of enriched [^{18}O] H_2O in a 7.5 MeV ABT Biomarker Generator cyclotron (ABT Molecular Imaging, Inc. ©, USA). [^{18}F]-Fluoride production: Bombarded 10 min; 4 μA ; target volume 280 μL , 180-200 MBq are obtained.

Separation of [^{18}F]-fluoride ions from [^{18}O]-water

By anion exchange resin:

0.3 mL of aqueous [^{18}F]-fluoride recovered from cyclotron (180 -200 MBq) was transferred to a pre-activated QMA anion trap that was pretreated with 6 mL pure water, 6 mL of saturated brine followed by 6 mL of pure water to convert it to the chloride form of the resin. The [^{18}F]-fluoride ions were eluted from the resin into the reaction vial using normal saline (NaCl 0.9% - 0.2 mL).

By electrochemical release:

Aqueous [^{18}F]-fluoride was absorbed on the anode by pumping the initial solution (0.2 -0.3 mL) while anodic potential +20V was applied. The flow rate (0.2 mL/min) was controlled via syringe pump. After trapping, the cell was washed with 1 mL of acetonitrile. Next, the release of [^{18}F]-fluoride into a solution of K_{222} , KHCO_3 and ACN-4%- H_2O was performed by applying a cathodic potential (-3.75 V) at a flow rate of 0.1 mL/min.

General procedure for ^{18}F - ^{19}F isotopic exchange

Radiosynthesis 1¹⁴⁴:

Aqueous [^{18}F]-fluoride was recovered from cyclotron, following by an azeotropic drying with acetonitrile at 100°C for 10 minutes under a compressed air flow. Compounds **203a-c** (0.2 or 0.02 mg) were diluted in 10 μL of ACN before transferring to a reaction vessel containing 189.3 \pm 24 MBq of dried [^{18}F] F^- . The reaction mixture stayed at 80°C for 20 minutes. The radiochemical yield of each reaction was assessed by reverse phase analytical HPLC equipped with a radiodetector, after bringing the volume of the solution up to 500 μL with CH_3CN . The retention time of [^{18}F]-**203a**, [^{18}F]-**203b**, and [^{18}F]-**203c** is 11.14 min, 12.31 min and 8.00 min respectively (Method A). The identities of the compounds were confirmed by comparison of the retention times with those of the starting (non-radioactive) compounds.

Radiosynthesis 2:

Aqueous [^{18}F]-fluoride was recovered from cyclotron, and trapped on an anion exchange resin cartridge (Sep-PaK QMA). The cartridge was eluted with a solution of NaCl 0.9%.

Then, water was removed by heating at 100°C with acetonitrile for 10 minutes. Compounds **205**, **212**, **214** and **215** (0.2 mg) were diluted in 30 µL of ACN before transferring to a reaction vessel containing 149.3±28 MBq of [¹⁸F]F⁻ in solution of 10 µL of HCl 0.01M which brought the pH to 4-5. The reaction mixture stayed at 80°C for 20 minutes. The radiochemical yield of each reaction was assessed by reverse phase analytical HPLC equipped with a radiodetector, after bringing the volume of the solution up to 500 µL with CH₃CN. The retention time of [¹⁸F]-**205**, [¹⁸F]-**212**, [¹⁸F]-**214** and [¹⁸F]-**215** is 11.23 min (Method C), 8.01 min (Method C), 6.12 min (Method B) and 6.30 min (Method B) respectively. The identities of the compounds were confirmed by comparison of the retention times with those of the starting (non-radioactive) compounds.

General procedure for [^{18/19}F]-KHF₂ carrier added reaction

Radiosynthesis 3¹⁴⁴:

Aqueous [¹⁸F]-fluoride was recovered from cyclotron, following by an azeotropic drying with acetonitrile at 100°C for 10 minutes under a compressed air flow. Dried [¹⁸F]-fluoride ions (189.3±24 MBq) were resuspended in a 10 µL KHF₂ solution (0.2 or 0.02 M), and then stirred at room temperature during 1 minute. Compounds **148a**, **148b**, and **150** (0.2 mg) were diluted in 100 µL of water and then transferred to a reaction vessel containing previously formed [^{18/19}F]-KHF₂. The reaction was performed during 20 min at 50 °C. The radiochemical yield of each reaction was assessed by reverse phase analytical HPLC equipped with a radiodetector, after bringing the volume of the solution up to 500 µL with CH₃CN. The retention time of [¹⁸F]-**203a**, [¹⁸F]-**203b**, and [¹⁸F]-**203c** (final compounds) is detailed on previous paragraph *General procedure for ¹⁸F-¹⁹F- isotopic exchange, Radiosynthesis 1*.

Radiosynthesis 4:

The two ways of [¹⁸F]-fluoride separation were carried out (*Separation of [¹⁸F]-fluoride ions from [¹⁸O]-water*):

1/ Aqueous [¹⁸F]-fluoride was recovered from cyclotron, and trapped on an anion exchange resin cartridge (Sep-PaK QMA). The cartridge was eluted with a solution of NaCl 0.9%. Water was removed by heating at 100°C with acetonitrile for 10 minutes.

2/ Aqueous [¹⁸F]-fluoride was recovered from cyclotron, and trapped on the positively charged electrode of an electrochemical cell. The trapped [¹⁸F]F⁻ was released into a solution of ACN-4% H₂O with K₂S₂O₈ and KHCO₃. Then, solvent was removed by heating at 100°C with acetonitrile for 10 minutes.

General protocol for **175** labelling:

Dried [¹⁸F]-fluoride ions (149.3±28 MBq) were resuspended in a 10 µL KHF₂ solution (0.2 M), and then stirred at room temperature during 1 minute. Compounds **175** (0.2 mg) were diluted in 100 µL of mixture water/methanol (9/1), and then transferred to the reaction vessel containing previously formed [^{18/19}F]-KHF₂. The reaction was performed during 20 min at 50 °C. The radiochemical yield of each reaction was assessed by reverse phase analytical HPLC equipped with a radiodetector, after bringing the volume of the solution up to 500 µL.

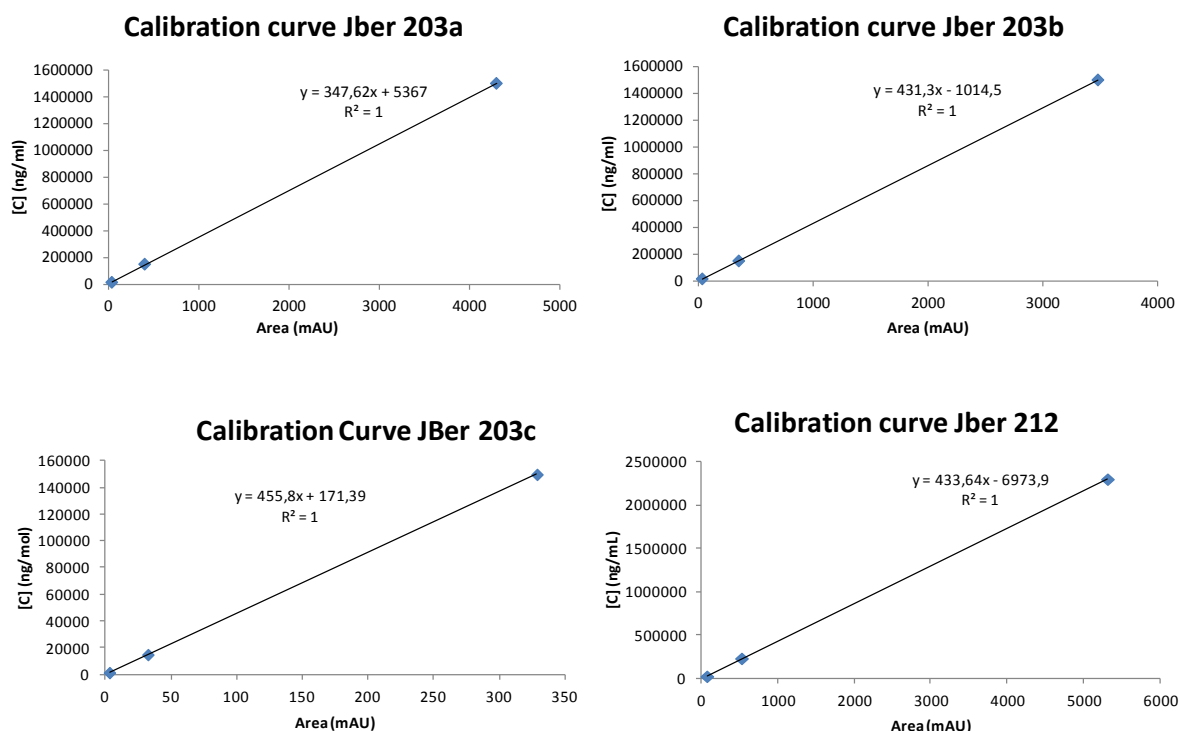
with CH₃CN. The retention time of [¹⁸F]-**216** (final compound) is detailed on previous paragraph *General procedure for ¹⁸F-¹⁹F- isotopic exchange, Radiosynthesis 2*.

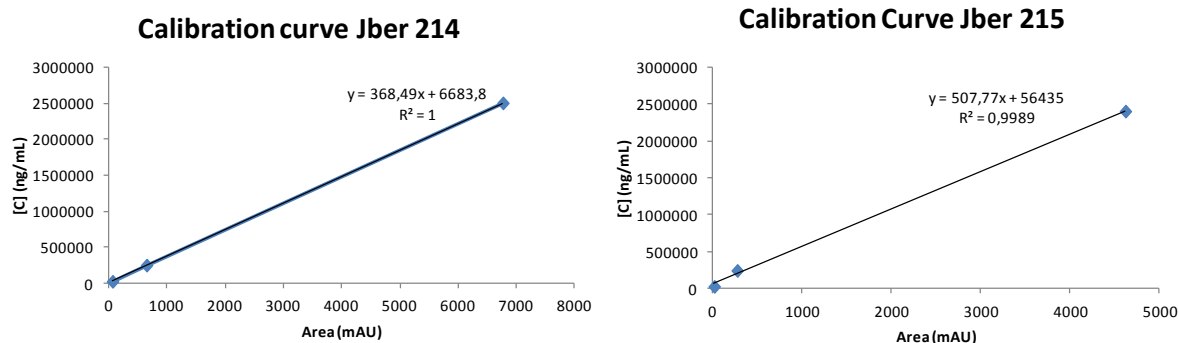
Radiosynthesis 5:

Aqueous [¹⁸F]-fluoride was recovered from cyclotron, and trapped on an anion –exchange resin cartridge (Sep-PaK QMA). The cartridge was eluted with a solution of NaCl 0.9%. Water was removed by heating at 100°C with acetonitrile for 10 minutes. Dried [¹⁸F]-fluoride ions (149.3±28 MBq) were resuspended in a 10 µL KHF₂ solution (0.2 M), and then stirred at room temperature during 1 minute. Compounds **153b** (0.2 mg) were diluted in 100 µL of mixture HCl 0.01M/ methanol (9/1), and then transferred to the reaction vessel containing previously formed [^{18/19}F]-KHF₂. The reaction was performed during 20 min at 50 °C. The radiochemical yield of each reaction was assessed by reverse phase analytical HPLC equipped with a radiodetector, after bringing the volume of the solution up to 500 µL with CH₃CN. The retention time of [¹⁸F]-**209** (final compound) is detailed on previous paragraph *General procedure for ¹⁸F-¹⁹F- isotopic exchange, Radiosynthesis 2*.

Specific Activity (SA) calculations

In order to determine the specific activity of the [¹⁸F]-labelled compounds, UV-HPLC calibration curves were first established by using unlabelled reference samples.





The **specific activity** of the radiolabelled product at the time of analysis was determined in GBq/ μ mol, according to the following calculation: firstly, the UV-HPLC calibration of the non-radioactive (cold) analogous precursor was made in order to determine the concentration of the product using the resulting UV peak area; secondly, the total amount of radioactivity at the end of the reaction and purification was measured in GBq using a dose calibrator. The specific activity of the product was calculated by dividing the total activity of the radiotracer recovered from the semi-prep by the amount of product in μ mol, based on the integration of the UV-HPLC

$$\text{SA (GBq}/\mu\text{mol)} = \frac{\text{final radiotracer activity (GBq)}}{\text{volume (ml)} \times \text{concentration (g/ml)}} \times \text{molar mass (g}/\mu\text{mol)}$$

Stability protocols

For the in vitro stability test, [^{18}F]-**203a-c** (approx. 37 MBq) dissolved in PBS buffer were incubated with 1mL of human serum at 37 °C for 5 hours and then analysed by radioHPLC.

Conclusion Générale

L'objectif principal de cette recherche portait sur la synthèse de sels de phosphonium boronates dérivés d'acides aminés dans le but de piéger les [^{18}F]-fluorures par formation d'une liaison B-F, et d'évaluer leur potentiel en tant qu'agent d'imagerie TEP. Ce projet a également été étendu au développement de phosphonium boronates porteurs d'un groupement cationique, en vue d'un ciblage des dysfonctionnements mitochondriaux (**Schéma 96**).

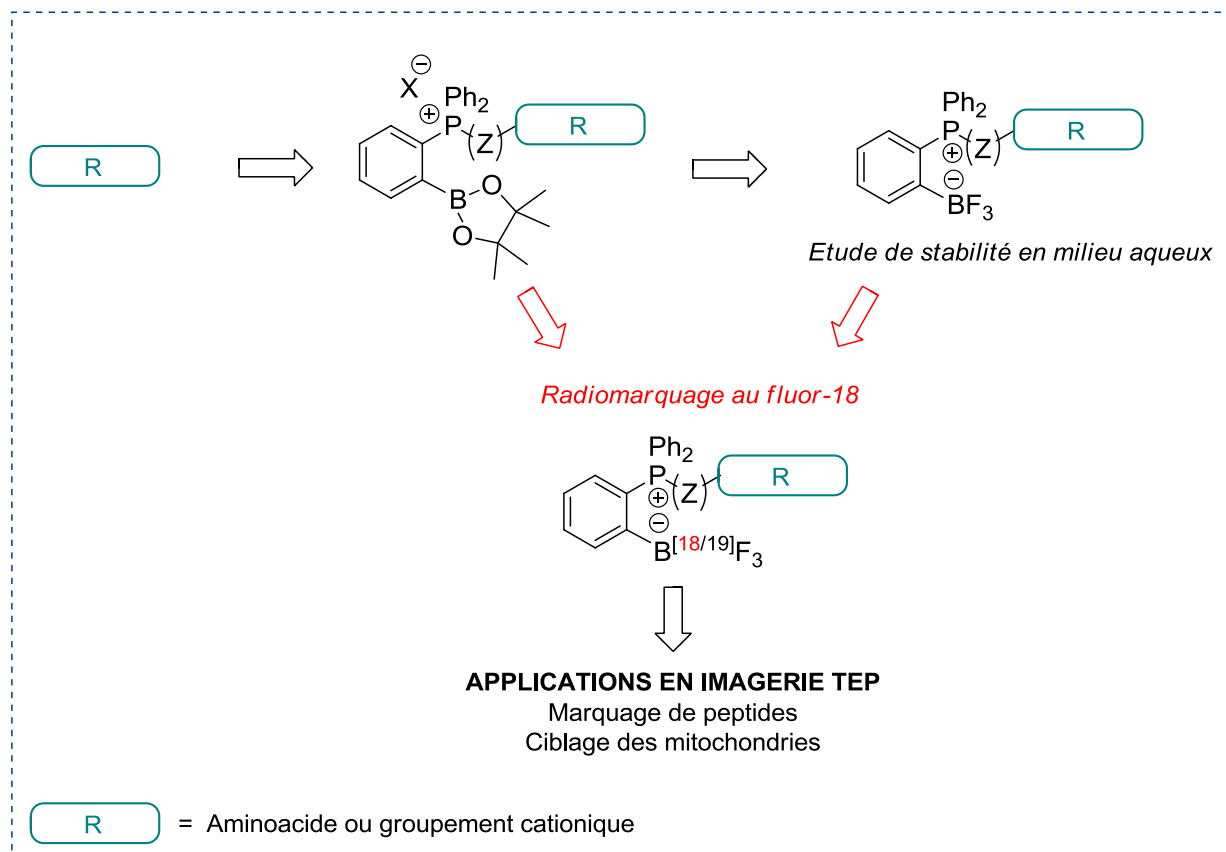


Schéma 96: Schéma récapitulatif du projet

Une première partie de ce travail a consisté à mettre au point la synthèse de sels de phosphonium boronates dérivés d'acides aminés, porteurs d'une fonction acide ou amine libre, offrant l'opportunité d'un couplage ultérieur à une biomolécule. Ainsi, par quaternisation de la phosphine boronate avec des β -iodo aminoesters ou des γ -iodo aminoesters, nous avons préparé stéréosélectivement les phosphoniums boronates aminoesters correspondants avec des rendements allant de 55 à 88%. La saponification des aminoesters nous donne les dérivés avec la fonction acide libre, tandis que l'acidolyse par HCl mène à l'amine correspondante sous forme de chlorure, sans altération du groupement boronate. Cette méthode a été appliquée à un β -iodo aminoacide, nous donnant accès à un exemple de phosphonium boronate porteur d'une fonction acide libre avec 70% de rendement. Dans une seconde approche, la quaternisation des phosphines boronates a été réalisée par réaction avec différents halogénures fonctionnalisés, suivie de la conjugaison avec un aminoacide, nous donnant accès à une seconde génération de PBAA avec des rendements globaux corrects (27 à 51%). En parallèle, une synthèse efficace, en deux étapes, de phosphoniums boronates cationiques en vue d'un ciblage des dysfonctionnements mitochondriaux, a été mise au point à partir du diiodopropane. Ainsi, deux sels de phosphonium boronates porteurs

d'un groupe ammonium et un diphosphonium boronate ont été obtenus avec de bons rendements (67-89%).

Dans un second temps, la préparation des différents sels de phosphonium *o*-trifluoroborates a été décrite à partir des phosphoniums boronates correspondants synthétisés précédemment. Les trifluoroborates sont obtenus en 1 heure à température ambiante ou à 50°C avec des rendements de 50 à 91% par réaction des précurseurs boronates avec du KHF_2 en solution dans un mélange hydroalcoolique. Les études de stabilité en milieu aqueux des phosphoniums *o*-trifluoroborates aminoacides ont permis d'établir que ces dérivés présentent une très bonne résistance envers l'hydrolyse, avec un maximum de 5% de fluor libre dans le milieu après 5 heures. De plus, nos résultats montrent également que sur des périodes de 3 jours, la stabilité de tels trifluoroborates est peu sensible à la nature des substituants (Boc, Benzyle, Benzoyl...) sur le phosphore.

En collaboration avec le Dr. S. Archibald, et dans le cadre d'un séjour au sein du Positron Emission Tomography Research Centre à l'Université de Hull, la [^{18}F]-radiosynthèse des sels de phosphonium boronates a été étudiée selon deux méthodes :

- par échange isotopique $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ à partir d'un trifluoroborate.
- ou par addition de KHF_2 au fluor-18 en partant d'un sel de phosphonium boronaté.

Les radiosynthèses ont été réalisées dans des conditions douces (températures moyennes, milieu peu acide et dilué) dans des temps compatibles avec la durée de demi-vie du radioélément en vue d'un potentiel marquage de biomolécules. Ces réactions se sont révélées très efficaces pour le radiomarquage des dérivés aminoacides avec des conversions suffisantes allant de 38 à 95%. Intéressamment, après une synthèse totale de 50 minutes comprenant le séchage azéotropique, la synthèse et la purification, [^{18}F]-**203c** a été obtenu avec un rendement radiochimique de 10% corrigé de la décroissance, une pureté radiochimique $\geq 97\%$ et une activité spécifique de 0.13 GBq/ μmol . Dans le cas des phosphoniums boronates porteurs d'un substituant cationique, nous avons montré que la qualité du [^{18}F]-fluor joue un rôle primordial lors de la réaction. Ainsi, après séparation du [^{18}F]-fluor de l'eau enrichie soit par piégeage sur résine ou soit par voie électrochimique, les premiers tests de marquage ont montré des résultats encourageants avec des conversions de 40 à 80%.

Finalement, il ressort que la présence du phosphonium en *ortho* du groupement trifluoroborate présente un très grand intérêt sur la stabilité de tels dérivés, et nous permet d'envisager une utilisation future de ce type de dérivés en imagerie TEP.

Pour finaliser ce projet, il reste à optimiser la mise au point de la purification des dérivés marqués par le fluor-18 afin de définir le rendement radiochimique, l'activité spécifique. Par la suite, il sera intéressant d'obtenir les premières images pour valider la biodistribution de ces dérivés, notamment concernant le ciblage des fonctions mitochondriales, dans un premier temps. A plus long terme, les phosphoniums boronates préparés dans ce travail ouvrent des perspectives intéressantes pour le marquage de peptides ou de biomolécule de façon générale.

Références Bibliographiques

1. Zaccaro, L.; del Gatto, A.; Pedone, C.; Saviano, M. *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 780.
2. Baker, S. J.; Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4279.
3. Baker, S. J.; Ding, C. Z.; Akama, T.; Zhang, Y. -K.; Hernandez, V.; Xia, Yi. *Future Med. Chem.* **2009**, *7*, 1275.
4. Skaff, O.; Jolliffe, K. A.; Hutton, C. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7353.
5. Vähätalo, J. K.; Eskola, O.; Bergman, J.; Forsback, S.; Lehtikainen, P.; Jääskeläinen, J.; Solin, O. *J. Label Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 697.
6. Cai, L.; Lu, S.; Pike, V. W. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2853.
7. Li, Z.; Conti, P. S. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2010**, *62*, 1031.
8. Burns, H. D.; Hamill, T. G.; Eng, W.; Francis, B.; Fioravanti, C.; Gibson, R. E. *Curr. Opin. in Chem. Biol.* **1999**, *3*, 388.
9. Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8998.
10. Langner, J. University of Applied Sciences, Dresden, **2003**.
11. Cherry, S. R. *J. Nucl. Med.* **2006**, *47*, 1735.
12. Wadsak, W.; Mitterhauser, M. *Eur. J. Rad.* **2010**, *73*, 461.
13. Fowler, J. S.; Wolf, A. P. *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 181.
14. Ying, Li. *Sci. China Chem.* **2013**, *56*, 1682.
15. Serdons, K.; Verbruggen, A.; Bormans, G. M. *Methods*, **2009**, *48*, 104.
16. Pasqualini, R. *Med. Nucl.* **2005**, *29*, 179.
17. Pagani, M.; Stone-Elander, S.; Larsson, S. A. *Eur. J. Nucl. Med.* **1997**, *24*, 1301.
18. Ametamey, S. M.; Honer, M.; Schubiger, P. A. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1501.
19. Le Bars, D. *J. Fluor. Chem.* **2006**, *127*, 1488.
20. Koivula, T.; Simecek, J.; Jalomäki, J.; Helariutta, K.; Airaksinen, A. J. *Radiochim. Acta* **2011**, *99*, 293.
21. Pauwels, E. K. J.; Ribeiro, M. J.; Stoot, J. H. M. B.; McCready, V. R.; Bourguignon, M.; Mazière, B. *Nucl. Med. Biol.* **1998**, *25*, 317.
22. Abouzied, M. M.; Crawford, E. S.; Nabi, H. A. *J. Nucl. Med. Technol.* **2005**, *33*, 145.
23. a) Ido, T.; Wan, C.-N.; Casella, V.; Folwer, J. S.; Wolf, A. P. *J. Label Compd. Radiopharm* **1977**, *2*, 175. b) Folwer, J. S.; Ido, T. *Sem. Nucl. Med.* **2002**, *XXXII*, 6.
24. Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 235.
25. de Beco, V.; Le Bars, D.; Scherrmann, J.-M. *Ann. Pharma. Fr.* **2008**, *66*, 60.
26. Becherer, A.; Szabo, M.; Karanikas, G.; Wunderbaldinger, P.; Angelberger, P.; Raderer, M.; Kurtaran, A.; Dudczak, R.; Kletter, K. *J. Nucl. Med.* **2004**, *45*, 1161.
27. a) Vallabhajosula, S. *Sem. Nucl. Med.* **2007**, 400. b) Nanni, C.; Fanti, S.; Rubello, D. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1577.
28. a) Dolle, F.; Demphel, S.; Hinnen, F.; Fournier, D.; Vaufrey, F.; Crouzel, C. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1997**, *XL1*, 105. b) Namavari, M.; Bishop, A.; Satyamurphy, N.; Bida, G.; Barrio, J. R. *Appl. Radiat. Isot.* **1992**, *43*, 989.
29. Lemaire, C.; Gillet, S.; Guillouet, S.; Plenevaux, A.; Aerts, J.; Luxen, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2899.
30. Libert, L. C.; Franci, X.; Plenevaux, A. R.; Ooi, T.; Maruoka, K.; Luxen, A.; Lemaire, C. *J. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 1154.
31. Couturier, O.; Luxen, A.; Chatal, J.F.; Vuillez, J.P.; Rigo, P.; Hustinx, R. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2004**, *31*, 1182.
32. DeGrado, T. R.; Coleman, R. E.; Wang, S.; Baldwin, S. W.; Orr, M. D.; Robertson, C. N.; Polascik, T. J.; Price, D. T. *Cancer Res.* **2000**, *61*, 110.
33. Iwata, R.; Pascali, C.; Bogoni, A.; Furumoto, S.; Terasaki, K.; Yanai, K. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 347.

34. Been, L. B.; Suurmeijer, A. J. H.; Cobben, D. C. P.; Jager, P. L.; Hoekstra, H. J.; Elsinga, P. H. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2004**, *31*, 1659.
35. Shields, A. F. *J. Fluor. Chem.* **2003**, *44*, 1432.
36. Wilson, I. K.; Chatterjee, S.; Wolf, W. *J. Fluor. Chem.* **1991**, *55*, 283.
37. Grierson, J. R.; Shields, A. F. *Nucl. Med. Biol.* **2000**, *27*, 143.
38. Martin, S. J.; Eisenbarth, J. A.; Wagner-Utermann, U.; Mier, W.; Henze, M.; Pritzkow, H.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M. *Nucl. Med. Biol.* **2002**, *29*, 263.
39. Oh, S. J.; Mosdzianowski, C.; Chi, D. Y.; Kim, J. Y.; Kang, S. K.; Ryu, J. S.; Y, J. S.; Moon, D. H. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 803.
40. Heiss, P.; Mayer, S.; Herz, M.; Wester, H-J.; Schwaiger, M.; Senekowitsch-Schmidtke, R. *J. Nucl. Med.* **1999**, *40*, 1367.
41. Wester, H. J.; Herz, M.; Weber, W. Heiss, P.; Senekowitsch-Schmidtke, R.; Schwaiger, M.; Stöcklin, G. *J. Nucl. Med.* **1999**, *40*, 205.
42. Hamacher, K.; Coenen, H. H. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 853.
43. McConathy, J.; Yu, W.; Jarkas, N.; Seo, W.; Schuster, D. M.; Goodman, M. M. *Med. Res. Rev.* **2012**, *32*, 868.
44. Schottelius, M.; Wester, H-J. *Methods* **2009**, *48*, 161.
45. Ogawa, M.; Hatano, K.; Oishi, S.; Kawasumi, Y.; Fujii, N.; Kawaguchi, M.; Doi, R.; Imamura, M.; Yamamoto, M.; Ajito, K.; Mukai, T.; Saji, H.; Ito, K. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 1.
46. Hess, E.; Sichler, S.; Kluge, A.; Coenen, H. H. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 185.
47. Roehn, U.; Becaude, J.; Mu, L.; Srinivasan, A.; Stellfeld, T.; Fitzner, A.; Graham, K.; Dinkelborg, L.; Schubiger, A. P.; Ametamey, S. M. *J. Fluor. Chem.* **2009**, *130*, 902.
48. McConathy, J.; Martarello, L.; Malveaux E. J.; Camp, V. M.; Simpson, N. E.; Simpson, C. P.; Bowers, G. D.; Zhang, Z.; Olson, J. J.; Goodman, M. M. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 447.
49. Becaude, J.; Mu, L.; Karamkam, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Lehman, L.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A.; Smits, R.; Koks, B. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 2254.
50. Jacobson, O.; Ma, Y.; Weiss, I. D.; Sun, X.; Niu, G.; Kiesewetter, D. O.; Chen, X. *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 422.
51. Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7751.
52. Ichiishi, N.; Brooks, A. F.; Topczewski, J. J.; Rodnick, M. E.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. *H. Org. Lett.* **2014**, *16*, 3224.
53. Richter, S.; Wuest, M.; Krieger, S. S.; Rogers, B. E.; Friebe, M.; Bergmann, R.; Wuest, F. *Nucl. Med. Biol.* **2013**, *40*, 1025.
54. Sutcliffe-Goulden, J. L.; O'Doherty, M. J.; Marsden, P. K.; Hart, I. R.; Marshall, J. F.; Bansal, S. S. *Eur. J. Nucl. Med.* **2002**, *29*, 754.
55. Li, X-G.; Haaparanta, M.; Solin, O. *J. Fluor. Chem.* **2012**, *143*, 49.
56. Glaser, M.; Morrison, M.; Solbakken, M.; Arukwe, J.; Karlsen, H.; Wiggen, U.; Champion, S.; Kindberg, G. M.; Cuthbertson, A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 951.
57. de Bruin, B.; Kuhnast, B.; Hinnen, F.; Yaouancq, L.; Amessou, M.; Johannes, L.; Samson, A.; Boisgard, R.; Tavitian, B.; Dollé, F. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 406.
58. Prante, O.; Einsiedel, J.; Haubner, R.; Gmeiner, P.; Wester, H-J.; Kuwert, T.; Maschauer, S. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 254.
59. Marik, J.; Sutcliffe, J. L. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6681.
60. Daumar, P.; Wanger-Baumann, C. A.; Pillarsetty, N.; Fabrizio, L.; Carlin, S. D.; Andreev, O. A.; Reshetnyak, Y. K.; Lewis *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 1557.

61. McConathy, J.; Zhou, D.; Shockley, S. E.; Jones, L. A.; Griffin, E. A.; Lee, H.; Adams, S. J.; Mach, R. H. *Mol. Imaging* **2010**, *9*, 329.
62. Maschauer, S.; Einsiedel, J.; Haubner, R.; Hocke, C.; Ocker, M.; Hübner, H.; Kuwert, T.; Gmeiner, P.; Prante, O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 976.
63. Campbell-Verduyn, L. S.; Mirfeizi, L.; Schoonen, A. K.; Dierckx, R. A.; Elsinga, P. H.; Feringa, B. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11117.
64. McBride, W. J.; Sharkey, R. M.; Karacay, H.; D'Souza, C. A.; Rossi, E. A.; Laverman, P.; Chang, C.-H.; Boerman, O. C.; Goldenberg, D. M. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 991.
65. Laverman, P.; McBride, W. J.; Sharkey, R. M.; Goldenberg, D. M.; Boerman, O. C. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57*, 219.
66. Dijkgraaf, I.; Franssen, G. M.; McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Laverman, P.; Smith, C. J.; Goldenberg, D. M.; Oyen, W. J. G.; Boerman, O. C. *J. Nucl. Med.* **2012**, *53*, 947.
67. a) McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Sharkey, R. M.; Goldenberg, D. M. *Appl. Radiat. Isot.* **2012**, *70*, 200. b) Lütje, S.; Franssen, G. M.; Sharkey, R. M.; Laverman, P.; Rossi, E. A.; Goldenberg, D. M.; Oyen, W. J. G.; Boerman, O. C.; McBride, W. J. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 335.
68. Rosenthal, M. S.; Bosch, A. L.; Nickles, R. J.; Gatley, S. J. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1985**, *36*, 318.
69. Ting, R.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13094.
70. Schirmmayer, R.; Bradtmöller, G.; Schirmmayer, E.; Thews, O.; Tillmanns, J.; Siessmeier, T.; Buchholz, H. G.; Bartenstein, P.; Wängler, B.; Niemeyer, C. M.; Jurkschat, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6047.
71. Schirmmayer, E.; Wängler, B.; Cypriak, M.; Bradtmöller, G.; Schäfer, M.; Eisenhut, M.; Jurkschat, K.; Schirmmayer, R. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2085.
72. Höhne, A.; Mu, L.; Honer, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Klar, U.; Voigtmann, U.; Cyr, J. E.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1871.
73. a) Wängler, C.; Niedermoser, S.; Chin, J.; Orchowski, K.; Schirmmayer, E.; Jurkschat, K.; Iovkova-Berends, L.; Kostikov, A. P.; Schirmmayer, R.; Wängler, B. *Nature Protocols* **2012**, *7*, 1946. b) Lindner, S.; Michler, C.; Leidner, S.; Rensch, C.; Wängler, C.; Schirmmayer, R.; Bartenstein, P.; Wängler, B. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 738.
74. Molander, G. A.; Biolatto, B. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1867.
75. a) Ting, R.; Harwig, C. W.; auf dem Keller, U.; McCormick, S.; Austin, P.; Overall, C. M.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12045. b) Li, Y.; Guo, J.; Tang, S.; Lang, L.; Chen, X.; Perrin, D. M. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *3*, 44. c) Li, Y.; Liu, Z.; Lozada, J.; Wong, M. Q.; Lin, K.-S.; Perrin, D. M. *Nucl. Med. Biol.* **2013**, *40*, 959.
76. a) auf dem Keller, U.; Bellac, C. L.; Li, Y.; Lou, Y.; Lange, P. F.; Ting, R.; Harwig, C.; Kappelhoff, R.; Dedhar, S.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Bénard, F.; Perrin, D. M.; Overall, C. M. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 7562. b) Li, Y.; Ting, R.; Harwig, C.; auf dem Keller, U.; Bellac, C. L.; Lange, P. F.; Inkster, J. A. H.; Schaffer, P.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Overall, C. M.; Perrin, D. M. *Med. Chem. Commun.* **2011**, *2*, 942.
77. Smith, T. A. D.; Simpson, M.; Cheyne, R.; Trembleau, L. *App. Rad. Isot.* **2011**, *69*, 1395.
78. Li, Y.; Liu, Z.; Harwig, C. W.; Pourghiasian, M.; Lau, J.; Lin, K.-S.; Schaffer, P.; Bénard, F.; Perrin, D. M. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2013**, *1*, 57.
79. Liu, Z.; Li, Y.; Lozada, J.; Wong, M. Q.; Greene, J.; Lin, K.-S.; Yapp, D.; Perrin, D. M. *Nucl. Med. Chem* **2013**, *40*, 841.
80. Hendricks, J. A.; Keliher, E. J.; Wan, D.; Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R.; Mazitschek, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4603.

81. Liu, S.; Lin, T-P.; Li, D.; Leamer, L.; Shan, H.; Li, Z.; Gabbai, F. P.; Conti, P. S. *Theranostics* **2013**, 3, 181.
82. Hamanaka, N.; Kosuge, S.; Igochu, S. *Synlett* **1990**, 139.
83. a) Rémond, E.; Tessier, A.; Leroux, F. R.; Bayardon, J.; Jugé, S. *Org. Lett.* **2010**, 12, 1568. b) Wittig, G.; Braun, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1971**, 751, 27.
84. Zhou, Y.; Liu, S. *Bioconjugate Chem.* **2011**, 22, 1459.
85. Rémond, E.; Bayardon, J.; Ondel-Eymin, M-J.; Jugé, S. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 7579.
86. Ravert, H. T.; Madar, I.; Dannals, R. F. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2004**, 47, 469.
87. Madar, I.; Ravert, H. T.; Du, Y.; Hilton, J.; Volokh, L.; Dannals, R. F.; Frost, J. J.; Hare, J. M. *J. Nucl. Med.* **2006**, 47, 1359.
88. a) Kim, D-Y.; Kim, H-J.; Yu, K-H.; Min, J-J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 319. b) Kim, D-Y.; Kim, H-J.; Yu, K-H.; Min, J-J. *Nucl. Med. Biol.* **2012**, 39, 1093.
89. Yuan, H.; Cho, H.; Chen, H. H.; Panafia, M.; Sonsnovik, D. E.; Josephson, L. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 10361.
90. Wade, C. R.; Broomsgrove, A. E. J.; Aldridge, S.; Gabbai, F. P. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3958.
91. Dorsey, C. L.; Jewula, P.; Hudnall, T. W.; Hoefelmeyer, J. D.; Taylor, T. J.; Honesty, N. R.; Chiu, C. W.; Schulbe, M.; Gabbai, F. P. *Dalton Trans.* **2008**, 4442.
92. Hudnall, T. W.; Chiu, C-W.; Gabbai, F. P. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 388.
93. Zhao, H.; Leamer, L. A.; Gabbai, F. P. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 8164.
94. Hudnall, T. W.; Kim, Y-M.; Bebbington, M. W. P.; Bourissou, D.; Gabbai, F. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 10890.
95. Wade, C. R.; Zhao, H.; Gabbai, F. P. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 6380.
96. Li, Z.; Chansaenpak, K.; Liu, S.; Wade, C. R.; Conti, P. S.; Gabbai, F. P. *Med. Chem. Commun.* **2012**, 3, 1305.
97. Audi, H.; Rémond, E.; Eymin, M-J.; Tessier, A.; Malacea-Kabbara, R.; Jugé, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7960.
98. a) Itaya, T.; Mizutani, A. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 347. b) Itaya, T.; Mizutani, A.; Iida, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 1407.
99. a) Sibi, M. P.; Renhowe, P. A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 7407. b) Sibi, M. P.; Rutherford, D.; Renhowe, P. A.; Li, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7509.
100. Meyer, F.; Laaziri, A.; Papini, A. M.; Uziel, J.; Jugé, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 2229.
101. Berkowitz, D. B.; Chisowa, E.; McFadden, J. M. *Tetrahedron* **2001**, 57, 6329.
102. Nolen, E. G.; Kurish, A. J.; Wong, K. A.; Orlando, M. D. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2449.
103. Collier, P. N.; Patel, I.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3401.
104. Balsé, O.; Porcel, S.; Ladeira, S.; Bouhadir, G.; Bourissou, D. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 4495.
105. Porcel, S.; Bouhadir, G.; Saffon, N.; Maron, L.; Bourissou, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6186.
106. Courtemanche, M. -A.; Légaré, M. -A.; Maron, L.; Fontaine, F. -G. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 9326.
107. Harder, S.; Brandsma, L.; Kanters, J. A.; Duisenberg, A.; van Lenthe, J. H. *J. Organomet. Chem.* **1991**, 420, 143.
108. Huang, Y.; Dalton, D. R.; Carroll, P. J. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 372.
109. a) Laaziri, A.; Uziel, J.; Jugé, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 437. b) Meyer, F. *Thèse de l'Université de Cergy-Pontoise* **2000**.
110. Bernard, J.; Malacea-Kabbara, R.; Goncalo, C.; Burke, B. P.; Eymin, M-J.; Archibald, S. J.; Jugé, S. *J. Org. Chem. (Submitted)*.

111. Rudzinska, E.; Berlicki, L.; Kafarski, P.; Lämmerhofer, M.; Mucha, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2709.
112. Tremblay, M. S.; Lec, M.; Sames, D. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5.
113. (a) Koseki, Y.; Yamada, H.; Usuki, T. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 580. (b) Adamczyk, M.; Johnson, D. D.; Reddy, R. E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 3063. (c) Ramalingam, K.; Woodard, R. W. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1900. (d) Brown, F. K.; Brown, P. J.; Bickett, D. M.; Chambers, C. L.; Davies, H. G.; Deaton, D. N.; Drewry, D.; Foley, M.; McElroy, A. B.; Gregson, M.; McGeehan, G.; Myers, P. L.; Norton, D.; Salovich, J. M.; Schoenen, F. J.; Ward, P. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 674.
114. Rémond, E. *Thèse de l'Université de Bourgogne* **2010**.
115. Hebbe, V.; Londez, A.; Goujon-Ginglinger, C.; Meyer, F.; Uziel, J.; Jugé, S.; Lacour, J. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *44*, 2476.
116. Chung, S. J.; Chung, S.; Lee, H.; Kim, E.-J.; Oh, K. S.; Choi, H. S.; Kim, K. S.; Kim, Y. J.; Hahn, J. H.; Kim, D. H. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6462.
117. Müller, J.; Feifel, S. C.; Schmiederer, T.; Zocher, R.; Süßmuth, R. D. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 323.
118. Nguyen, K. T.; Syed, S.; Urwyler, S.; Bertrand, S.; Bertrand, D.; Reymond, J.-L. *ChemMedChem* **2008**, *3*, 1520.
119. Lawrence, N. J.; Liddle, J.; Jackson, D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **2002**, 2260.
120. Kiddle, J. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1339.
121. Porcal, W.; Hernandez, P.; Aguirre, G.; Boiani, L.; Boiani, M.; Merlino, A.; Ferreira, A.; Di Maio, R.; Castro, A.; Gonzalez, M.; Cerecetto, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2768.
122. Sreekanth, K.; Himaja, M.; Anand, R.; Karigar, A.; Sikarwar Mukesh, S. *IRJP*, **2011**, *2*, 186.
123. Enschedé, C.; Hesse, M. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 1659.
124. Poissonier-Durieux, S.; Ettaoussi, M.; Pérès, B.; Boutin, J. A.; Audinot, V.; Bennejean, C.; Delagrèze, P.; Caignard, D. H.; Renard, P.; Berthelot, P.; Lesieur, D.; Yous, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8339.
125. Bayardon, J.; Laureano, H.; Diemer, V.; Dutartre, M.; Das, U.; Rousselin, Y.; Henry, J.-C.; Colobert, F.; Leroux, F. R.; Jugé, S. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5759.
126. a) Jugé, S.; Bayardon, J.; Rémond, E.; Laureano, H.; Henry, J. -C.; Collobert, F.; Leroux, F. *Intern. Patent* **2011**, US 61/506,291; FR 11 56686. b) Bayardon, J.; Bernard, J.; Malacea-Kabbara, R.; Rousselin, Y.; Jugé, S. *Org. Lett. (En préparation)*.
127. Dunina, V. V.; Kuz'mina, L. G.; Kazakova, M. Yu.; Grishin, Yu. K.; Veits, Yu. A.; Kazakova, E. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 2537.
128. Baechler, R. D.; Mislav, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 3090.
129. Min, J. -J.; Biswal, S.; Deroose, C.; Gambhir, S. S. *J. Nucl. Med.* **2004**, *45*, 636.
130. Deligeorgiev, T.; Vasilev, A.; Tsvetkova, T.; Drexhage, K. -H. *Dyes and Pigments* **2007**, *75*, 658.
131. Murphy, J. A.; Sherburn, M. S. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 4077.
132. Dyer, G.; Roscoe, J. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 4098.
133. Moiseev, D. V.; Patrick, B. O.; James, B. R.; Hu, T. Q. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 9389.
134. Kabalka, G. W. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 888.
135. Ting, R.; Harwig, C. W.; Lo, J.; Li, Y.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4662.
136. Burke, B. P.; Clemente, G. S.; Archibald, S. J. *Contrast Media Mol. Imaging* **2014**, DOI: 10.1002/cmmi.1615.
137. Vedejs, E.; Chapman, R. W.; Fields, S. C.; Lin, S.; Schrimpf, M. R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3020.

138. Li, Y.; Asadi, A.; Perrin, D. M. *J. Fluor. Chem.* **2009**, *130*, 377.
139. Liu, Z.; Hundal-Jabal, N.; Wong, M.; Yapp, D.; Lin, K. –S.; Bénard, F.; Perrin, D. M. *Med. Chem. Commun.* **2014**, *5*, 171.
140. a) Silverdes, J. D.; Smith, R.; Archibald, S. A. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6289. b) Lorch, M.; Thomasson, M. J.; Diego-Taboada, A.; Barrier, S.; Atkin, S. L.; Mackenzie, G.; Archibald, S. A. *Chem. Commun.* **2009**, 6442. c) Fischer, C. M.; Fuller, E.; Burke, B. P.; Mogilireddy, V.; Pope, S. J. A.; Sparke, A. E.; Déchamps-Olivier, I.; Cadiou, C.; Chuburu, F.; Faulkner, S.; Archibald, S. J. *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 9567.
141. Schirrmacher, R.; Wängler, C.; Schirrmacher, E. in *Fluorine-18 Radiochemistry : Theory and Practise in Pharmaceutical Radiochemistry (I)*, Ed. Wester, H. J.; Vol. 1; Munich Molecular Handbook series, Sunhomics Print Media and Publishing; 2010; 5-73.
142. Liu, Z.; Li, Y.; Lozada, J.; Pan, J.; Lin, K. –S.; Schaffer, P.; Perrin, D. M. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2012**, *55*, 491.
143. Liu, Z.; Li, Y.; Lozada, J.; Schaffer, P.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2303.
144. Clemente, G. S.; Bernard, J.; Burke, B. P.; Malacea-Kabbara, R.; Jugé, S.; Archibald, S. J. *J. Fluor. Chem. (In preparation)*.
145. Sadeghi, S.; Liang, V.; Cheung, S.; Woo, S.; Wu, C.; Ly, J.; Deng, Y.; Eddings, M.; van Dam, R. M. *Appl. Rad. Iso.* **2013**, *75*, 85.
146. He, P.; Haswell, S. J.; Pamme, N.; Archibald, S. J. *Appl. Rad. Iso.* **2014**, *91*, 64.
147. Reetz, M. T.; Gosberg, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 2129.
148. Zhu, X.; Anderson, V. E.; Sayre, L. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2009**, *23*, 2113.
149. Devedjiev, I. T.; Bairyamov, S. G.; Videva, V. S. *Heteroatom Chem.* **2008**, *19*, 252.
150. Hajipour, A. R.; Falahati, A. R.; Ruoho, A. E. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4191.

Synthèse de pinces à fluorures dérivées d'acides aminés pour l'imagerie TEP

Ce travail de thèse réalisé à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne et en collaboration avec le PET Research Centre, porte sur la synthèse d'une nouvelle classe de **pinces à fluorures dérivées d'acides aminés** dans le but de piéger les ions ^{18}F -fluorures par formation d'une **liaison B-F** et d'évaluer leur potentiel en tant **qu'agent d'imagerie TEP**. Les travaux ont tout d'abord concerné la conception, la synthèse et la caractérisation des nouveaux sels de phosphoniums boronates et trifluoroborates dérivés d'acides aminés. Ainsi, par **quaternisation** de l'*o*-boronate phényl phosphine avec des β -iodo amino esters ou des γ -iodo amino esters, les sels correspondants sont obtenus sans racémisation et avec des rendements atteignant 88%. La saponification des phosphoniums boronates aminoesters donne les dérivés avec la fonction acide libre, tandis que l'acidolyse par HCl mène à l'amine correspondante offrant ainsi, l'opportunité d'un couplage ultérieur à une biomolécule. Ensuite, les dérivés trifluoroborates sont facilement préparés par réaction de KHF_2 en solution dans un mélange hydroalcoolique. Les études de stabilité en milieux aqueux des phosphoniums *o*-trifluoroborates aminoacides ont permis d'établir que ces dérivés sont extrêmement stables à l'hydrolyse. Enfin, la **^{18}F -radiosynthèse** des sels de phosphonium boronates a été étudiée selon deux méthodes: par échange isotopique ^{18}F - ^{19}F direct à partir d'un trifluoroborate et par marquage direct d'un sel de phosphonium boronate en présence d'un mélange de fluorures ^{18}F et KHF_2 . Intéressamment, après une synthèse totale de 50 minutes comprenant le séchage azeotropique, la synthèse et la purification, **^{18}F -203c** a été obtenu avec un rendement radiochimique de 10% corrigé de la décroissance, une pureté radiochimique $\geq 97\%$ et une activité spécifique de 0.13 GBq/ μmol .

Mots clés : Phosphonium, Acides aminés, Pinces à fluorures, ^{18}F -Radiofluoration

Synthesis of fluoride pincers derived from amino acids for PET imaging

This thesis project, which is part of a collaboration between the Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne and the Positron Emission Tomography Research Centre, is about the synthesis of **fluoride pincers derived from amino acids** based on **^{18}F -B bond construction** to get a new class of **PET imaging agents**. First, this project concerned the design, synthesis and characterisation of new boronate and trifluoroborate phosphonium amino acid salts. **Quaternisation** of *o*-boronate phenyl phosphine with β -iodo amino esters or γ -iodo amino ester leads to the corresponding salts without racemisation and in yields up to 88%. Saponification of boronate phosphonium amino esters afford the free carboxylic acid derivatives, whereas HCl acidolysis leads to the corresponding amino compounds which offers the opportunity of further biomolecule coupling. Then, *o*-trifluoroborate phosphonium salts are efficiently prepared by reaction with KHF_2 in solution on hydroalcoholic mixture. The kinetic stabilities of these *o*-trifluoroborate phosphoniums have shown extremely stable compounds to hydrolysis. Finally, **^{18}F -radiosyntheses** of phosphonium salts was studied according to two methods : by ^{18}F - ^{19}F isotopic exchange from trifluoroborate or by carrier added preparation of ^{18}F -fluoride ions from boronate phosphonium salts. Satisfactorily, after a total synthesis of 50 minutes (including azeotropic drying, synthesis and purification), **^{18}F -203c** was obtained with a RCY on 10% decay corrected, a RCP $\geq 97\%$ and a specific activity of 0.13 GBq/ μmol .

Key words : Phosphonium salts, Aminoacids, Fluoride pincers, ^{18}F -radiosynthesis
